

**Untersuchungen der Zytotoxizität von zahnärztlichen  
Werkstoffen  
mit Hilfe des XTT-Tetrazoliumreduktionstests EZ4U  
an der humanen Zelllinie U937**

**D i s s e r t a t i o n**

**zur Erlangung des akademischen Grades doctor medicinae  
dentariae (Dr. med. dent.)**

**vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät  
der Friedrich-Schiller-Universität Jena**

**von Katja Hofmann  
geboren am 11.10.1970 in Weimar**

Gutachter 1: Prof.Dr.Dr.Klöcking, Dachwig

Gutachter 2: Prof.Dr. Hoyer, Jena

Gutachter 3: Prof.Dr.Gängler, Witten

Tag der öffentlichen Verteidigung: 04.11.2003

## Verzeichnis der Abkürzungen

ATCC	American Tissue Culture Catalog
ATP	Adenosintriphosphat
BfArM	Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte
BisEMA	2,2-Bis[4-(2-methacryloyloxyethoxy)-phenyl]Propan
BisGMA	2,2-Bis[4-(2-hydroxy-3-methacryloyloxypropoxy)-phenyl]Propan
CC <sub>10</sub>	Konzentration bei 10% Zytotoxizität
CC <sub>50</sub>	Konzentration bei 50% Zytotoxizität (halbmaximale zytotoxische Konzentration)
CC <sub>90</sub>	Konzentration bei 90% Zytotoxizität
CD <sub>10</sub>	zytotoxische Dosis bei 10% Zytotoxizität (Stoffmenge, die die Tetrazoliumreduktion um 10% verringert)
CD <sub>50</sub>	zytotoxische Dosis bei 50% Zytotoxizität (Stoffmenge, die die Tetrazoliumreduktion um 50% verringert)
CD <sub>90</sub>	zytotoxische Dosis bei 90% Zytotoxizität (Stoffmenge, die die Tetrazoliumreduktion um 90% verringert)
CEN	European Committee for Standardization
CT	Zytotoxizität
DGZMK	Deutsche Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
DMSO	Dimethylsulfoxid
ECACC	European Collections of Cell Cultures
EN	Euronorm
EU	Europäische Union
EWG	Europäische Wirtschaftsgemeinschaft
EZ4U	Easy for You (Name des Zellproliferationstests)
FBS	fötales bovines Serum (fötales Rinderserum)
FCS	fötales Kälberserum
HaCaT	human adult calcium temperature
HELA	Cervix-Tumorzellen, benannt nach Henrietta Lacks
HEMA	2-Hydroxyethylmethacrylat
HgCl <sub>2</sub>	Quecksilber(II)-chlorid
ISO	International Organisation for Standardization

LDH	Laktatdehydrogenase
MA	Methacrylat
MDD	Medizinprodukte-Direktive (Medical Device Direktive)
MeHgCl	Methylquecksilberchlorid
MTT	3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)2,5-diphenyltetrazoliumbromid
n	Anzahl der Stichproben (Versuche)
PK	Prüfkörper
PMMA	Polymethylmethacrylat
RPMI	Roswell Parc Memorial Institute
SE	Fehler des Mittelwertes
STABW	Standardabweichung
TEGDMA	Triethylenglykoldimethacrylat
TMA	Trimethacrylat
UDMA	Urethandimethacrylat
XTT	Na-3,3'-[1-(phenylamino)carbonyl-3,4-tetrazolium]-bis (4-methoxy-6-nitrobenzol)-sulfonsäurehydrat
$\bar{x}$	Mittelwert

## Inhaltsverzeichnis

	<b>Seite</b>
<b>1. Zusammenfassung</b>	<b>1</b>
<b>2. Einleitung</b>	<b>3</b>
<b>3. Ziele der Arbeit</b>	<b>6</b>
<b>4. Materialien</b>	<b>8</b>
4.1. Testmaterialien	8
4.1.1. Komposite	8
4.1.2. Kompomere	8
4.1.3. Dentalzemente	9
4.1.4. Bioglaskeramik	9
4.1.5. Monomere	9
4.1.6. Quecksilberverbindungen	9
4.2. Testkit	10
4.3. U937-Zellen und Materialien zur Zellzüchtung	10
4.4. Geräte und Hilfsmittel	11
<b>5. Methoden</b>	<b>13</b>
5.1. Zellzüchtung und Bestimmung der Zellzahl	13
5.2. Untersuchung der Zytotoxizität mit EZ4U	13
5.3. Testdurchführung	16
5.4. Probenvorbereitung	18
5.5. Extraktionsbedingungen für den Extraktionsversuch mit Spectrum	19
5.6. Auswertung der Messergebnisse	20
5.6.1. Bestimmung der Zytotoxizität	20
5.6.2. Bestimmung der zytotoxischen Kenngrößen	21
5.7. Statistische Verfahren	23
<b>6. Ergebnisse</b>	<b>25</b>
6.1. Zytotoxizität der einzelnen Werkstoffe und zytotoxische Kenngrößen mit Konfidenzgrenzen	25
6.1.1. Komposite	26
6.1.1.1. Glacier	26
6.1.1.2. Wave	27
6.1.1.3. Spectrum	28

	<b>Seite</b>
6.1.1.4. Spectrum nach 72-stündiger Extraktion	29
6.1.2. Kompomere	32
6.1.2.1. F2000	32
6.1.2.2. Freedom	33
6.1.2.3. Dyract	34
6.1.3. Dentalzemente	36
6.1.3.1. Ionofil Molar (ganzer Prüfkörper)	36
6.1.3.2. Ionofil Molar (Pulver)	37
6.1.3.3. Cupro Dur N (ganzer Prüfkörper)	38
6.1.3.4. Cupro Dur N (Pulver)	39
6.1.4. Bioglaskeramik	42
6.1.4.1. Bioverit II (ganzer Prüfkörper)	42
6.1.4.2. Bioverit II (Pulver)	43
6.1.5. Monomere	45
6.1.5.1. Triethylenglykoldimethacrylat (TEGDMA)	45
6.1.5.2. 2-Hydroxyethylmethacrylat (HEMA)	46
6.1.5.3. Methacrylat (MA)	47
6.1.6. Quecksilberverbindungen	50
6.1.6.1. Quecksilber(II)-chlorid	50
6.1.6.2. Methylquecksilberchlorid	51
6.2. Morphologische Beobachtungen	53
<b>7. Diskussion</b>	<b>56</b>
<b>8. Schlussfolgerungen</b>	<b>69</b>
<b>9. Literaturverzeichnis</b>	<b>71</b>
<b>Anhang</b>	
<b>Danksagung</b>	
<b>Ehrenwörtliche Erklärung</b>	
<b>Lebenslauf</b>	

## 1. Zusammenfassung

Die Biokompatibilität von Dentalwerkstoffen ist eine notwendige Voraussetzung für den klinischen Einsatz dieser Materialien. Erste Hinweise für eine mögliche Inkompatibilität liefert die Testung der zahnärztlichen Werkstoffe in Zellkulturen. Hierfür sind verschiedene In-vitro-Methoden in Gebrauch, mit denen vor allem die Auswirkungen der Testsubstanzen auf Zellproliferation, Morphologie und Metabolismus festgestellt werden.

In der vorliegenden Studie wurden ausgewählte Dentalwerkstoffe - 2 Dentalzemente, 3 Komposite, 3 Kompomere und eine Bioglaskeramik sowie die Kunststoffmonomere Methacrylat (MA), Triethylenglykoldimethacrylat (TEGDMA) und 2-Hydroxyethylmethacrylat (HEMA) - im XTT-Reduktionstest EZ4U an humanen U937-Zellen vergleichend auf ihr zytotoxisches Potenzial nach 1- und 24-stündiger Exposition geprüft. Dabei steht im Gegensatz zu den meisten vorangegangenen Studien die Prüfung des Werkstoffes selbst und nicht die eines daraus hergestellten Eluates im Vordergrund.

Die Prüfkörper wurden soweit erforderlich angemischt, in praxisrelevanter Größe in Schablonen modelliert und nach den Angaben der Hersteller ausgehärtet. Unmittelbar nach Fertigstellung wurden die Prüfkörper in 96-Well-Mikrotestplatten mit einer Zellsuspension humaner promonozytärer U937-Zellen in Kontakt gebracht. Die Zellen ohne Prüfkörper dienten als Negativkontrollen. Als Positivkontrollen wurden Quecksilber(II)-chlorid- und Methylquecksilberchlorid-behandelte Zellen verwendet.

Nach ein- bzw. 24-stündiger Exposition bei 37°C wurde der XTT-Test durchgeführt. Aus den erhaltenen Werten wurde die Zytotoxizität der Werkstoffe berechnet sowie die halbmaximale zytotoxische Dosis ( $CD_{50}$ ) mittels Regressionsanalyse ermittelt. Die berechneten  $CD_{50}$ -Werte dienten als Grundlage für die Bewertung der Zytotoxizität der Testmaterialien.

Die Zytotoxizität der untersuchten Werkstoffe ist abhängig von der Art des Materials, vom Gewicht bzw. der Oberfläche des Prüfkörpers sowie von der Dauer der Exposition.

Die Dentalzemente Ionofil Molar und Cupro Dur N mit  $CD_{50}$ -Werten von 12-18 mg/0,2ml nach einstündiger Exposition erwiesen sich als am stärksten zytotoxisch. Eine etwa 6fach geringere zytotoxische Wirkung nach einer Stunde Exposition hatten die Komposite Glacier, Wave und Spectrum mit  $CD_{50}$ -Werten von 75-80 mg/0,2ml.

Die Kompomere F2000 und Dyract lagen mit  $CD_{50}$ -Werten von 63 und 88 mg/0,2ml nach einstündiger Exposition in der Größenordnung der geprüften Komposite. Das Kompomer Freedom zeigte mit einem  $CD_{50}$ -Wert von 162 mg/0,2ml nach einer Stunde Exposition die geringste Zytotoxizität. Eine 24-stündige Exposition der Prüfkörper steigerte die Zytotoxizität bei allen Werkstoffen um das 8- bis 10fache.

Die Monomere HEMA, TEGDMA und MA erwiesen sich mit  $CC_{50}$ -Werten von 3,5-5,6 mg/ml bei einer Stunde Exposition etwa 70-80 mal zytotoxischer als die Komposite und Kompomere. Bezogen auf die Dentalzemente sind sie etwa 15 mal zytotoxischer. Nach 24 Stunden Exposition betrugen die  $CC_{50}$ -Werte der Monomere 0,53 mg/ml (TEGDMA), 1,02 mg/ml (HEMA) und 1,59 mg/ml (MA). Dies zeigt deutlich den weiteren Anstieg der Zytotoxizität bei längerer Exposition.

Nach Pulverisierung der Dentalzementkörper Ionofil Molar und Cupro Dur N nahm die Zytotoxizität unter sonst gleichen Testbedingungen um das 26-28fache zu. Bioverit-II-Pulver war sogar 38fach toxischer als der Prüfkörper. Das von Spectrum Prüfkörpern nach 72-stündiger Extraktion mit RPMI hergestellte und separat getestete Eluat war nach 24-stündiger Exposition weniger zytotoxisch als der Prüfkörper.

Die als Positivkontrolle dienenden mit Quecksilberverbindungen behandelten U937-Zellen waren bei 24-stündiger Exposition mit  $CC_{50}$ -Werten von 0,5-1  $\mu$ g/ml gegenüber TEGDMA 500-1000 fach zytotoxischer. Damit konnte die Funktionalität des verwendeten Testsystems belegt werden.

Die Ergebnisse zeigen, dass sich feste Körper für die Beurteilung der Zelltoxizität besser eignen, als daraus hergestellte Eluate, da der Einsatz von Eluaten mit einem unrealistischen Zytotoxizitätsverlust einhergeht. Offensichtlich ist die Toxizität der Werkstoffe nicht nur auf diffusible Monomere, sondern zu einem wesentlichen Teil auch auf die Beschaffenheit der Materialoberfläche zurückzuführen.

Außerdem ist zu beachten, dass Prüfkörper für die Zytotoxizitätsprüfung als Ganzes, nicht in pulverisierter Form, eingesetzt werden, da die Pulverisierung zu unkontrollierter Oberflächenvergrößerung und damit zu erhöhter Zytotoxizität führt. Der XTT-Reduktionstest EZ4U ist für eine vergleichende Bewertung des zytotoxischen Effektes von Dentalwerkstoffen geeignet. Erforderlich für die Testung sind frisch hergestellte Prüfkörper gleicher Oberfläche in praxisrelevanter Größe. Wegen der nicht voraussagbaren Zeitabhängigkeit der zytotoxischen Wirkung sollten mindestens zwei definierte Expositionszeiten (1h, 24h) untersucht werden.



## 2. Einleitung

In der modernen Medizin spielen künstlich hergestellte, nicht körpereigene Werkstoffe und Biomaterialien eine immer größere Rolle.

Ihre Entwicklung hat in den letzten Jahren große Fortschritte gemacht, so dass sie heute im Hinblick auf Stabilität, Lebensdauer und Funktionstüchtigkeit hohe Ansprüche erfüllen. Beispiele hierfür sind implantierbare Mikroinfusionssysteme, Knochen- und Hautersatzmaterialien, aber auch Endoprothesen, wie künstliche Hüftgelenke oder Herzklappen. Sie ermöglichen auch solche Krankheiten akzeptabel zu therapieren, die früher mit einem großen Verlust an Lebensqualität einhergingen bzw. sogar zum Tode führten.

In der Zahnmedizin werden Biomaterialien/körperfremde Werkstoffe als Füllungsmaterialien oder Zahnersatzwerkstoffe schon seit langem eingesetzt. Hier sind vor allem Amalgam und Keramiken zu nennen, die in mehr oder weniger veränderter Zusammensetzung mit gutem Erfolg verwendet werden.

Im Gegensatz dazu kommen in der heutigen Zeit neue Materialien und Werkstoffe in noch nie dagewesener Zahl und Geschwindigkeit auf den Markt. Glaubt man den Werbeversprechen, so müssten diese Stoffe alle den gewünschten Zweck erfüllen und leicht zu verarbeiten sein (Bengel, 1998). Allen neu entwickelten und angebotenen Materialien ist aber gemeinsam, sei es in der Humanmedizin oder in der Zahnmedizin, dass sie in direkten oder indirekten Kontakt mit dem menschlichen Gewebe oder den Körperflüssigkeiten gelangen. Somit stellt sich die Frage nach ihrer Verträglichkeit für den menschlichen Organismus, d.h. nach ihrer Biokompatibilität.

Die Biomaterialien dürfen den Organismus in keiner Weise schädigen, auch nicht bei Einwirkung des biologischen Milieus auf den Werkstoff. So sind bei der toxikologischen Bewertung nicht nur der Kunststoff als Endprodukt, sondern auch das monomere Ausgangsmaterial sowie die verschiedenen Zusatzstoffe in Betracht zu ziehen, wobei Herstellungsprozess, Gebrauch und Abbau gesondert zu bewerten sind (Hentschel und Klöcking, 1998).

Alle Biomaterialien einschließlich sämtlicher Dentalwerkstoffe, die mit lebendem Gewebe von Patienten oder zahnärztlichem Personal in langzeitigen bzw. häufigen Kontakt kommen, werden bevor sie zum Einsatz kommen, auf ihre Biokompatibilität geprüft. Der Begriff Biokompatibilität wurde auf der „Consensus Conference on Definition in Biomaterials“ 1986 von der Europäischen Gesellschaft für Biowerkstoffe

folgendermaßen definiert: „*Biocompatibility is the ability of a material to perform with an appropriate host response in a specific application.*“ (Biokompatibilität ist die Fähigkeit eines Materials, bei einer spezifischen Anwendung mit einer angemessenen Wirtsantwort zu reagieren).

Wolf (1990) definiert Biokompatibilität als Summe von Energetik und Kinetik aller Prozesse, die an der Grenzfläche von Biomaterial und seiner biologischer Umgebung stattfinden. Das schließt sämtliche Veränderungen des Materials einerseits und alle hervorgerufenen Änderungen des biologischen Systems andererseits ein.

Zur Prüfung der Biokompatibilität von Biomaterialien stehen verschiedene In-vitro- und In-vivo-Methoden zur Verfügung, wobei mehrere Teststufen zu absolvieren sind (Groth et al., 1995). In erster Linie kommen Zytotoxizitätstests zum Einsatz, darunter u.a. der Agar-Overlay-Test, die mikroskopische Untersuchung morphologischer Zellveränderungen, verschiedene Tetrazoliumreduktionstests sowie Membrantoxizitätstests und Mutagenitäts- bzw. Genotoxizitätstests (z.B. Ames-Test) (Hanks et al., 1996).

Bei der Prüfung der Zytotoxizität zahnmedizinischer Abformmaterialien in der Zellkultur konnten Sydiskis und Gerhardt (1992) mit drei verschiedenen Methoden (direkter Material-Zellkontakt, Agar-Overlay-Test und Elutionstest) sehr ähnliche Ergebnisse erzielen.

Ein zweiter Schritt sind Anwendungstests in Tierversuchen, wobei klinische Situationen simuliert und auch allergisierende Wirkungen festgestellt werden können. Erst nach erfolgreicher Absolvierung dieser beiden Teststufen erfolgt die klinische Prüfung (Autian, 1974; Henning, 1998). Eine große Übereinstimmung zwischen In-vitro- und In-vivo-Resultaten fanden Svendsen und Mitarbeiter (1990) bei Untersuchungen von Polymerimplantaten mit dem Elutionstest.

Zahnärztliche Werkstoffe können Substanzen freigesetzen, die potenziell gewebsschädigend sind und eine Vielzahl von unerwünschten Reaktionen hervorrufen (Schmalz, 1994). Beispielsweise kann die Pulpa eines Zahnes durch Füllungsmaterialien geschädigt werden (Stanley, 1992). Lichenoide Veränderungen an der Mundschleimhaut wurden nach direktem Kontakt mit derartigen Werkstoffen beobachtet (Ostmann et al., 1996). Allergische Reaktionen auf Prothesen- und Füllungskunststoffe bei Patienten und zahnärztlichem Personal sind bekannt (Kanerva et al., 1989). Hallström (1993) beschreibt den anaphylaktischen Schock eines Patienten, der mit Fissurenversiegler behandelt wurde. Neben Patienten und

zahnärztlichem Personal sind besonders die Zahntechniker gefährdet, da bei ihnen wiederholter Hautkontakt zu bestimmten Dermatosen der Hände und der exponierten Haut führen kann (Gebhardt und Geier, 1996).

Seit dem 01.01.1995 sind Dentalwerkstoffe innerhalb der EU der Medizinprodukte-Direktive 93/94 unterworfen. Die Verantwortung für die Sicherheit eines Medizinprodukts liegt nach dieser Direktive beim Hersteller (Schmalz, 1994). Die Medizinprodukte-Direktive verweist auf verschiedene Normen, wobei speziell für die Zahnheilkunde die 1980 herausgegebene ISO 7405 Bedeutung hat. Jene Norm beschreibt eine Reihe von Anwendungstests, bei denen Dentalwerkstoffe so appliziert werden, wie es später am Patienten geschieht (Tierversuche). Außerdem werden Zytotoxizitätstests angegeben.

In der Regel steht am Beginn des Testverfahrens, welches als Stufensystem aufgebaut ist, der Zellkulturtest. Die biologische Prüfung von Werkstoffen mittels Zellkulturen hat in der Zahnheilkunde eine lange Tradition. In der ISO 7405 werden als Standardverfahren der Agar-Overlay-Test und der Filtertest beschrieben. Andere Verfahren sind ebenfalls möglich, vorausgesetzt sie entsprechen den Rahmenrichtlinien der ISO 10993-5 (Schmalz, 1995). Mit diesen Methoden wird eine Vielzahl von zahnärztlichen Werkstoffen geprüft.

Eine Möglichkeit, die zytotoxische Wirkung von Substanzen zu testen, sind Zelltoxizitäts- und Proliferationstests. Dabei gibt es mehrere Arten, die Anzahl der überlebenden Zellen nach direktem oder indirektem Kontakt mit der zytotoxisch wirkenden Substanz zu bestimmen: direkt durch Auszählen unter dem Mikroskop oder mit Hilfe des elektronischen Teilchenzählers, indirekt durch Messung der eingebauten Radioaktivität, durch Bestimmung des Gesamtproteins mit chromogenen Farbstoffen oder aus der Umsatzrate der zellulären Enzyme.

Mit dem Tetrazoliumreduktionstest EZ4U (Easy for you) lassen sich unbekannte Materialien schnell, zuverlässig und mit relativ geringem Aufwand auf ihre zytotoxische Wirkung testen. Vorteile des EZ4U-Testes sind Genauigkeit, Reproduzierbarkeit und Nichttoxizität des Tetrazoliumsalzes (Roehm et al., 1991; Carmichael et al., 1987; Denizoit and Lang, 1986).

In der vorliegenden Arbeit wird unter Nutzung der promonozytären Zelllinie U937 die Reduktion des Tetrazoliumsalzes XTT zum entsprechenden intensiv gefärbten Formazanderivat als Parameter für die Biokompatibilitätsprüfung zahnärztlicher Werkstoffe verwendet.

### 3. Ziele der Arbeit

Ziel dieser Arbeit ist die Prüfung ausgewählter zahnärztlicher Werkstoffe auf ihre zytotoxische Wirkung mit dem XTT-Reduktionstest EZ4U. Im Gegensatz zu den meisten vorangegangenen Studien steht dabei die Prüfung der Werkstoffe selbst und nicht die daraus hergestellter Eluate im Vordergrund.

Folgende Dentalwerkstoffe stehen für die Testung zur Verfügung: die Komposite Glacier, Wave und Spectrum, die Kompomere F2000, Freedom und Dyract, die Dentalzemente Ionofil Molar und Cupro Dur N, die Bioglaskeramik Bioverit II sowie zum Vergleich die Monomere TEGDMA, HEMA und MA. Außerdem werden zwei Quecksilberverbindungen (Quecksilber(II)-chlorid und Methylquecksilberchlorid) als Positivkontrollen in die Untersuchungen einbezogen.

Hauptaufgabe der Untersuchungen ist es, mit Hilfe des XTT-Testes EZ4U festzustellen, ob die genannten Dentalwerkstoffe eine über die physiologische Schwankungsbreite hinausgehende Störung lebensnotwendiger zellulärer Funktionen hervorrufen. Für die Untersuchung wird eine Suspensionskultur der promonozytären humanen Zelllinie U937 verwendet.

Die zu testenden Prüfkörper sollen möglichst nahen Bezug zur Praxis haben. Deshalb werden frisch hergestellte Prüfkörper eingesetzt, die in Masse und Größe kleineren Füllungen entsprechen.

Die Werkstoffe sollen nach Herstellerangaben verarbeitet, ausgehärtet und im Anschluss daran sofort getestet werden. Testsubstanzen und Zellen werden direkt untereinander in Kontakt gebracht, so dass nicht nur die toxischen Wirkungen eluierbarer Bestandteile erfasst werden, sondern auch die Wirkung des unmittelbaren Oberflächenkontaktes. Die zu untersuchenden Monomere sowie die als Positivkontrollen dienenden Quecksilberverbindungen werden dagegen in löslicher Form (als Konzentrationsreihen) getestet.

Wegen der nicht vorhersehbaren Zeitabhängigkeit der toxischen Wirkungen sind mindestens zwei definierte Expositionen (1h und 24h) für die Untersuchung der Zelltoxizität erforderlich.

Zur vergleichenden Bewertung der Zahnmaterialien sind von den Prüfkörpern halbmaximale Dosen ( $CD_{50}$ ) und von den Monomeren halbmaximale Konzentrationen ( $CC_{50}$ ) aus den stoffmengen- bzw. konzentrationsabhängigen Zytotoxizitätswerten zu ermitteln. Grundlage dafür sind die im Mikrotiterplattenreader

bei 450nm gemessenen Absorptionen des bei der XTT-Reduktion gebildeten Formazans und die daraus resultierenden Dosis-Wirkungs-Beziehungen. Ferner sind Angaben zu Stoffmengen und Konzentrationen zu machen, die zu minimaler bzw. maximaler Zellschädigung führen.

## 4. Materialien

(Das Dental Vademekum 7, 2000)

### 4.1. Testmaterialien

#### 4.1.1. Komposite

**Glacier:** Hybridkomposit, multifunktionseller Methacrylester (Southern Dental Industries GmbH, 50939 Köln)

**Spectrum<sup>TPH</sup>:** Feinsthybridkomposit, BisGMA-Addukt, BisEMA, Tegdma (DENT-SPLY DeTrey GmbH, 78467 Konstanz)

**Wave:** fließfähiges Komposit, multifunktionaler Methacrylester (Southern Dental Industries GmbH, 50939 Köln)

#### 4.1.2. Kompomere

Die Kompomere entwickelten sich aus den Kompositen und den Glasionomerzementen. Sie beruhen auf Kunststoffbasis und haben die Aushärtung unter Licht sowie die Fluoridabgabe als Vorteile.

**Dyract:** UDMA-Harz, TCB-Harz, Fluoridabgabe (DENTSPLY DeTrey GmbH, 78467 Konstanz)

**F2000:** Methacrylester, Fluoridabgabe (3 M Dental Products, St. Paul, MN 55144-1, U.S.A.)

**Freedom:** multifunktionaler Methacrylester, Fluorabgabe (Southern Dental Industries GmbH, 50939 Köln)

#### 4.1.3. Dentalzemente

**Ionofil Molar:** Glasionomerzement, Aushärtung erfolgt auf der Grundlage einer Säure-Base-Reaktion (Polyalkensäure und Silikatglaspulver) (Voco, 27457 Cuxhaven)

**Cupro Dur N:** Siliko-Phosphat-Zement mit Kupferzusatz, enthält: wässrige Phosphorsäure mit Zinkoxid + Aluminiumoxid + Aluminiumsilikatglas mit Kupfer angereichert (Merz Dental GmbH, 24321 Lütjenburg)

#### 4.1.4. Bioglaskeramik

**Bioverit II:** Glimmer-(Apatit)-Glas-Keramik, maschinell bearbeitbar, eingelagerte Apatitkristalle, 60 % Kristallphase und 40 % Glasphase (VITRON Spezialwerkstoffe GmbH, 07745 Jena)

#### 4.1.5. Monomere

**TEGDMA:** Triethylenglykoldimethacrylat (ESPE Dental-Medizin GmbH & Co. KG, 82229 Seefeld)

**HEMA:** 2-Hydroxyethylmethacrylat (ESPE Dental-Medizin GmbH & Co. KG, 82229 Seefeld)

**MA:** Methacrylat (ESPE Dental-Medizin GmbH & Co. KG, 82229 Seefeld)

#### 4.1.6. Quecksilberverbindungen

**HgCl<sub>2</sub>:** Quecksilber(II)-chlorid (Merck, 64293 Darmstadt)

**MeHgCl<sub>2</sub>:** Methylquecksilberchlorid (Merck, 64293 Darmstadt)

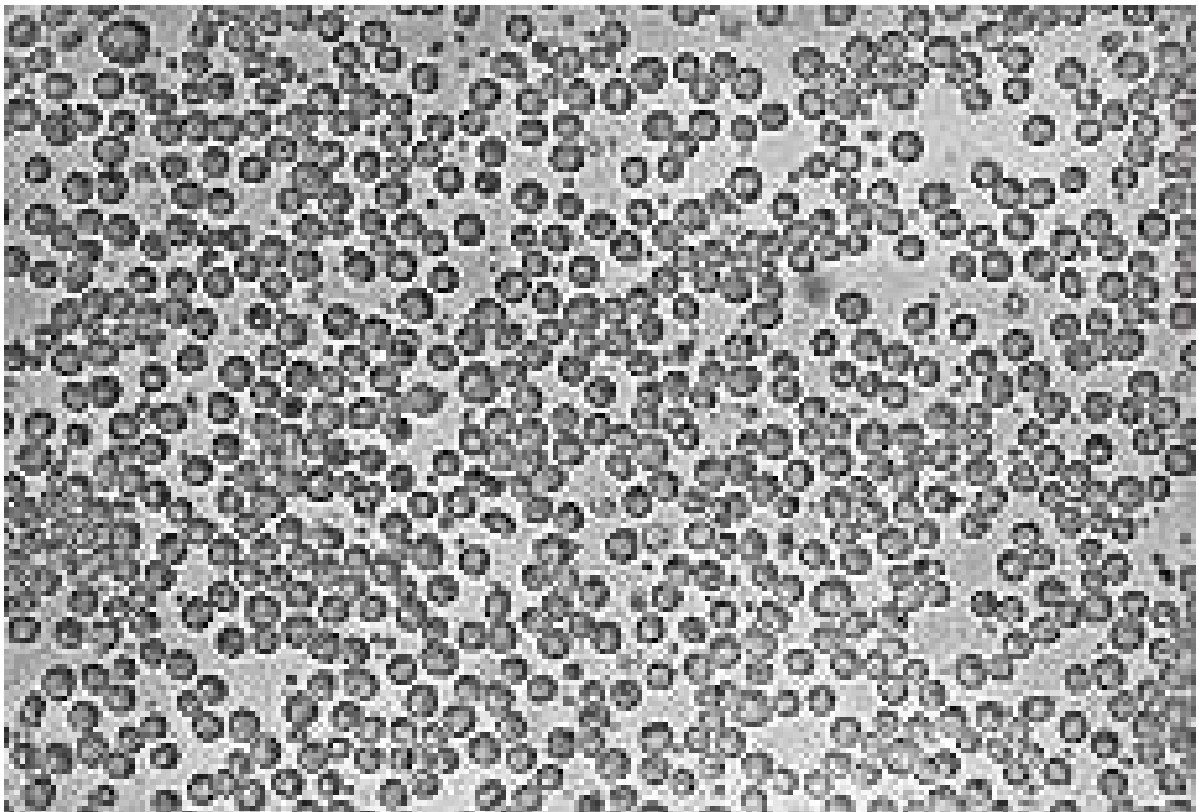
## 4.2. Testkit

Der Test EZ4U (EASY FOR YOU) ist ein nicht radioaktiver Zellproliferationstest und Zytotoxizitätstest der Firma Biomedica Ges.m.b.H, A-1210 Wien, Divischgasse 4, Kat. Nr. BI-5000. Eine Packung des Testkits ermöglicht eine Bearbeitung von 10 x 96 Wells einer Mikrottestplatte.

Bestandteile: Substrat (lyophilisiert), Aktivatorlösung

## 4.3. U937-Zellen und Materialien zur Zellzüchtung

Es wurde eine Suspensionskultur promonozytärer U937-Zellen (Abb.1) (U937-ATCC [CRL 1593] oder ECACC [Nr. 87010802]) verwendet und ständig vermehrt. Die 1974 von C. Sundström und K. Nilsson eingeführte Zelllinie entstammt einem Pleuraerguss eines 37-jährigen Mannes mit einem diffusen histiozytären Lymphom (Sundström und Nilsson, 1976).



**Abb.1: U937-Zellen (100fache Vergrößerung)**



Sie ist eine von wenigen humanen Zelllinien, die noch monozytäre Eigenschaften entsprechend dem histologischen Original aufweisen. Ushijimi und Mitarbeiter (1992) konnten zeigen, dass sich diese Zellen ebenso wie menschliche Monozyten verhalten, inkubiert man sie mit dem HIV- Virus. Larrick und Mitarbeiter wiesen 1980 die Makrophagenfunktion an U937-Zellen nach.

U937-Zellen wurden in den letzten Jahren mehrfach untersucht. Sie sind einfach zu kultivieren, wirtschaftlich, beständig gegenüber mechanischen Einflüssen und adhären nicht an Kunststoffoberflächen (Di Corleto und de la Motte, 1985).

Die Züchtung (Umsetzung) der U937-Zelllinie erfolgte in 260 ml Schrāghalszellkulturflaschen in RPMI Medium 1640 mit L-Glutamin und hitze-inaktiviertem fötalem Kälberserum (Medium und Kälberserum von der Firma Life Technologies Berlin).

#### **4.4. Geräte und Hilfsmittel**

Für die Zellumsetzung und den Versuchsablauf wurden des weiteren folgende Geräte und Hilfsmittel verwendet:

Begasungsbrutschrank BB 660 (Heraeus GmbH, Hanau)

Biofuge 15 R (Heraeus GmbH, Hanau)

Inverses Durchlicht-Mikroskop Televal 31 B-0730 (Carl Zeiss, Jena)

Reinraumwerkbank (Elektromat Dresden)

Schüttler Varishaker-Inkubator (Dynatech, Guernsey, Great Britain)

Mikrotiterplattenreader EAR 340 AT und 450 nm Filter (SLT Labinstruments GmbH, Deutschland)

Analysewaage AC 210 5001 (Sartorius, Göttingen)

Auslaufpipetten wassiert, steril, 5 und 10 ml (Nunc GmbH, Wiesbaden)

Pipettierhilfe Sarstedt (Sarstedt, Nürnberg)

Mikroliterspritze neolab 50 Mikroliter (Unimetrics, Shorwood, Illinois, USA)

TC-Flask Schrāghalskulturflaschen mit hydrophobem und bakteriendichtem Filter (Nunc, Brand Products, Dänemark)

Pipettenspitzen

Mikrotiterplatten Nunclon TM Surface, 96 Well, 86 x 128 mm (Nunc, Brand Products, Dänemark)

Varipette (Eppendorf GmbH, Hamburg)

Zentrifugenröhrchen Falcon 2051 aus Polystyren, 17 x 100 mm, 14 ml, steril, Rundboden (Becton-Dickinson-GmbH, Heidelberg)

Transferpette-8, 10-50 und 20-100 Mikroliter (Brand, Deutschland)

Bürker-Zählkammer (Feinoptik GmbH, Bad Blankenburg)

Substanzwannen aus Kunststoff

RPMI Medium 1640 ohne L-Glutamin

## **5. Methoden**

### **5.1. Zellzüchtung und Bestimmung der Zellzahl**

Die Züchtung der U937-Zellen erfolgte in 260 ml Schrāghalskulturflaschen aus Polystyren. Als Medium diente RPMI-1640-Medium mit L-Glutamin und 10% hitze-inaktiviertem fōtalen Rinderserum. Die Umsetzung erfolgte zweimal wōchentlich im Verhāltnis 1:5.

Die Inkubation fand in einem Begasungsbrutschrank bei 37°C und in einer wasserdampfgesättigten 5% CO<sub>2</sub> enthaltenden Atmosphäre statt.

Die Versuche wurden unter Verwendung von serum- und phenolrotfreiem Medium mit einer Zellzahl von  $5 \times 10^5$  Zellen/ml durchgeführt, welche nach der Verdünnung der Zellen mit RPMI-1640-Medium im Verhāltnis 1:1 in jeder einzelnen Kavität der Mikrotiterplatte zustande kam. Die Bestimmung der Zellzahl erfolgte in einer Bürker-Zählkammer (Feinoptik GmbH, Bad Blankenburg, Deutschland).

### **5.2. Untersuchungen der Zytotoxizität mit EZ4U**

Der XTT-Zytotoxizitätstest EZ4U erlaubt Substanzen mit unbekannter Wirkung auf die Zytotoxizität einfach, schnell und reproduzierbar zu testen. Es handelt sich hierbei um einen Tetrazoliumreduktionstest. Dieser Test bestimmt die Zellviabilität (Metabolisierungsrate) durch die Zugabe reproduzierbarer Materialien, deren Endprodukte spektroskopisch meßbare Färbungen aufweisen (Cory et al. 1991).

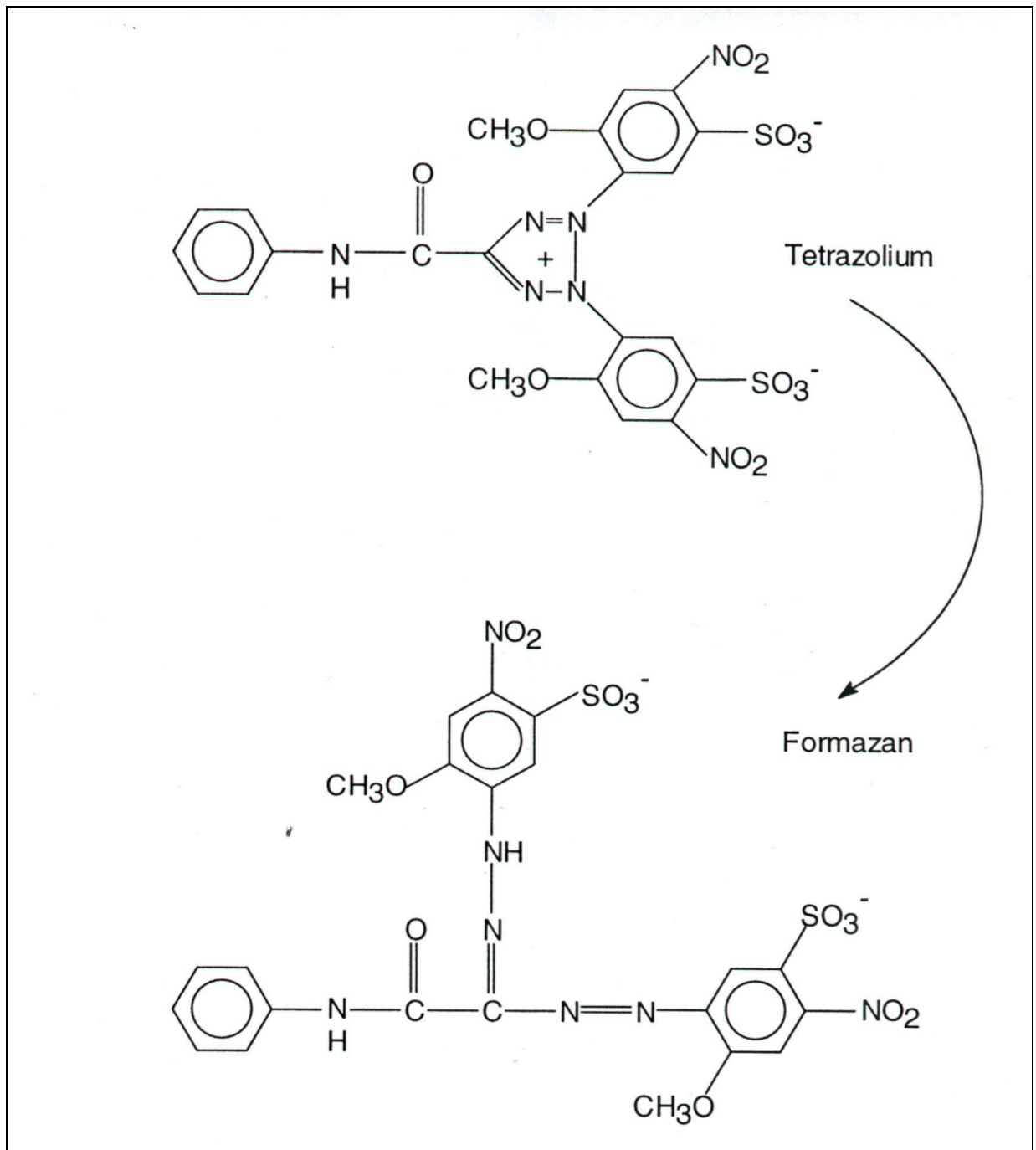
Bei dem Test EZ4U handelt es sich um einen nicht radioaktiven Zellproliferations- und Zytotoxizitätstest, welcher zum Studium von Wachstumsfaktoren, Nährstoffen, Zytokinen, zytotoxischen und chemotherapeutischen Substanzen dient. Der EZ4U-Test lehnt an den Thymidin-Standardtest an (EZ4U - Firmenschrift der Biomedica-Gesellschaft mbH, 1995).

Er orientiert sich am klassischen MTT-Test. Diesem gegenüber zeigt der EZ4U-Test den Vorteil, dass das gebildete Formazan wasserlöslich ist. Der Einsatz von Solubilisatoren wie DMSO entfällt deshalb genauso wie auch der zeitaufwändige Zwischenschritt zur Lösung des Reaktionsproduktes. Erreicht wurde dies durch die Einführung von Sulfonsäuregruppen in das Testreagens. Im Gegensatz zum MTT,

dessen Endprodukt Formazan keine Ladung mehr trägt, besitzt das Produkt des XTT (EZ4U) zwei geladene Komponenten, die einen entscheidenden Effekt auf die Löslichkeit haben (Comley und Turner, 1990).

Der EZ4U-Test verwendet Tetrazoliumsalze als Indikatoren für die Zellvitalität. Die Testmethode beruht auf der Umwandlung von schwach gefärbten oder farblosen nicht toxischen Tetrazoliumsalzen in intensiv gefärbte Formazanderivate bei Zellen mit intakten Mitochondrien (Abb.2). Eine solche Umwandlung findet hingegen bei toten Zellen mit avitalen Mitochondrien nicht statt, da jetzt das in den Mitochondrien lokalisierte intrazelluläre Reduktionssystem (Enzym: Succinatdehydrogenase) inaktiv wird. So kommt es wenige Minuten nach Eintreten des Zelltodes zur Inaktivierung der Mitochondrien, die metabolische Viabilität der Zellen sinkt. Die Folge ist eine verringerte Reduktionsrate des Testsubstrates und damit eine Abnahme der gemessenen Absorptionen. Die Umwandlung in Formazanderivate lässt sich im Spektrophotometer quantifizieren. Es ergibt sich somit eine gute Unterscheidungsmöglichkeit zwischen lebenden und toten Zellen, welche wesentlich deutlicher ist als die bloße Betrachtung unter dem Mikroskop (Mosman, 1983; Klöcking et al., 1995).

Als Vorteile des EZ4U gelten die Nontoxizität und die Möglichkeit der Doppelmarkierung der Zellen mit EZ4U und einem radioaktiven Nukleotid, um eventuell mehr Informationen über die Zellaktivität und den DNA-Gehalt zu bekommen. Von Nachteil ist, dass die entstehenden Formazane im Gegensatz zu den MTT-Produkten relativ instabil und weniger intensiv gefärbt sind, und den Zusatz eines elektronenkoppelnden Agens nötig machen. Deswegen wird das Lösen der lyophilisierten Testsubstanz in einem speziellen Puffer-Aktivator-Gemisch notwendig, wodurch der Zerfall des entstehenden Formazans durch die Einstellung eines günstigen Milieus ( Puffer) verhindert wird. Zugleich erhöht sich infolge einer vereinfachten Elektronenübertragung (Puffer) dessen Absorption (Brosin et al., 1997).



**Abb. 2: Reduktion des Tetrazoliums Salzes zu Formazan (Scudiero et al., 1998)**

Alles in allem ist der XTT-Test EZ4U sehr gut geeignet, neue Substanzen einfach, schnell und zuverlässig auf Zytotoxizität zu testen. Beim XTT-Test EZ4U ist wie auch in unserem Fall die Inkubationszeit entscheidend für die stattfindende Formazanproduktion. Es besteht eine positive Korrelation zwischen der Zelldichte und der Umwandlung des Tetrazoliums durch die Zellen (Uludag und Senfton, 1990).

### 5.3. Testdurchführung

1. Das Substrat des EZ4U wird in 2,5 ml Aktivatorlösung aufgelöst (unmittelbar vor dem Gebrauch).
2. 20 Mikroliter des Substrates werden zu 200 Mikrolitern Zellkultur pro Well pipettiert und 2 Stunden bei 37 Grad Celsius und einer CO<sub>2</sub> -Konzentration von 5% inkubiert.
3. Die Platte wird in einem entsprechendem Schüttelgerät (Varishaker) geschüttelt.
4. Die Messung der Absorption erfolgt bei 450 nm und 620 nm.
5. Die Absorption eines Blindwertes (Substrat ohne Zellen) wird von den Messwerten abgezogen (BLANK).

Im Ergebnis zeigt sich ein Farbwechsel. U937-Zellen sowie verschiedene andere Zellen haben unterschiedliche Fähigkeiten zur Umsetzung der zart gelb gefärbten Tetrazoliumverbindung in ziegelrotes Formazanderivat (metabolische Kapazität).

Die Messung der Absorption bei 620 nm (Referenzwellenlänge) dient zum Abzug des Backgrounds, der von Zellbruchstücken, Fingerabdrücken oder anderen Störfaktoren herrührt.

Praktische Versuchsdurchführung/ Versuchsansatz:

Die U937-Zellen wurden, wie unter 5.1. gezeigt, angezüchtet und regelmäßig umgesetzt.

Am Versuchstag fand die Aufteilung der 30 ml Zellsuspension auf drei Reagenzröhrchen und dann die Zentrifugation dieser bei 1200 Umdrehungen/min und einer Temperatur von 4°C für fünf Minuten in der Biofuge 15 R statt. Der Überstand wurde jeweils verworfen. Anschließend wurde das verbleibende Zellpellet mit 5 ml kaltem RPMI-1640-Medium ohne Glutamin und ohne Phenolrot einmal gewaschen, abzentrifugiert und der sich ergebende Überstand erneut verworfen. Die U937-Zellen wurden nun in RPMI-1640-Medium resuspendiert.

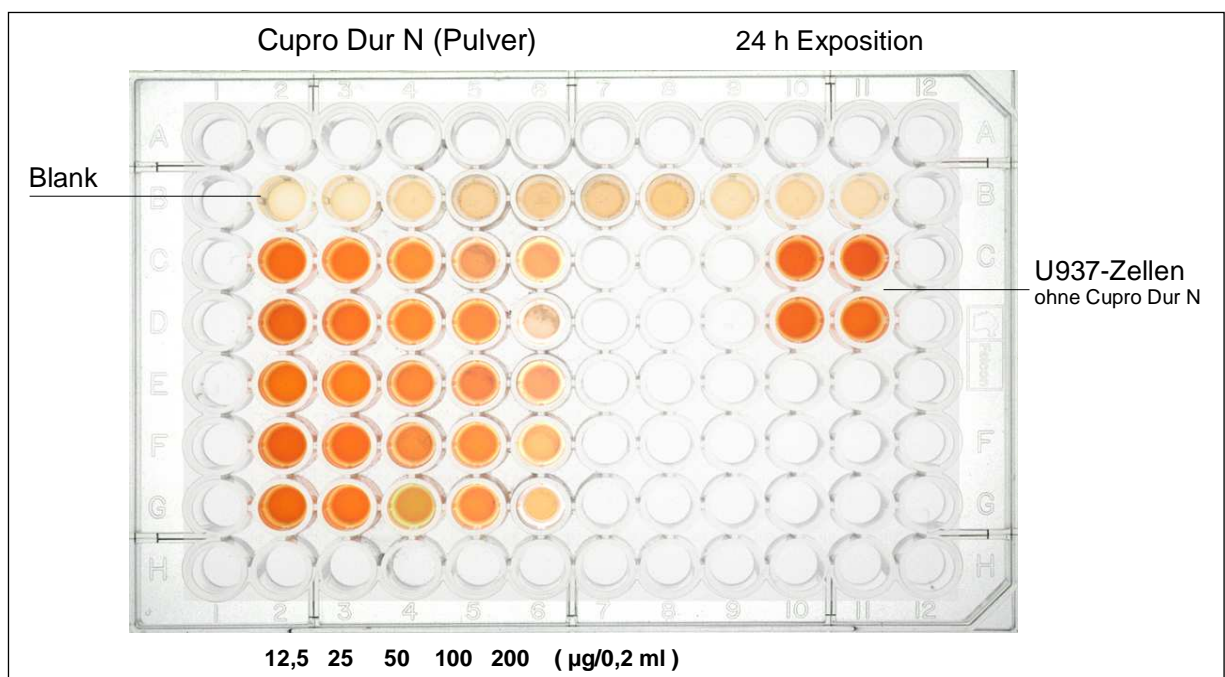
Der Versuch fand auf einer Mikrottestplatte statt, die wie folgt bestückt wurde:

- a) BLANK-Wert: 200  $\mu$ L Medium ohne Substanz
- b) Zellkontrolle: 100  $\mu$ L Zellen und 100  $\mu$ L Medium ohne Substanz
- c) Testansatz: 100  $\mu$ L Zellen und 100  $\mu$ L Medium mit Substanz

Nach der Plattenbelegung wurden die Platten im Begasungsbrutschrank BB 660 1 bzw. 24 Stunden (Exposition) bei 37°C und einer CO<sub>2</sub>-Konzentration von 5% inkubiert.

Nach dieser Zeit erfolgte die Zugabe von 20 Mikrolitern EZ4U-Substrat in jede Testkavität und die erneute Inkubation im Brutschrank für zwei Stunden.

Im direkten Anschluß daran wurde im Mikrotiterplattenreader nach kurzem Schütteln der Platte die Messung der Absorptionen vorgenommen (wie oben beschrieben).



**Abb.3: 96-Well-Mikrottestplatte nach Inkubation mit EZ4U: Versuch mit Cupro Dur N (Pulver), 24 h Exposition**

In Abbildung 3 ist die Belegung der Kavitäten einer Mikrottestplatte am Beispiel des Versuchs mit Cupro Dur N (Pulver) dargestellt. Die orange Färbung weist auf die stattgefundene Umwandlung von Tetrazolium in Formazan nach Inkubation mit dem EZ4U-Substrat hin.

## 5.4. Probenvorbereitung

Die untersuchten Stoffe lagen entweder als fester Körper, pulverförmig oder flüssig für den Test vor.

Die festen Körper ergaben sich durch die standardisierte Verarbeitung der zu prüfenden Dentalkunststoffe und Zemente. Die Verarbeitung der Komposite und Kompomere ist ähnlich, da zu ihrer Aushärtung UV-Licht benötigt wird.

Die Herstellung dieser Prüfkörper geschah in einer bestimmten Größe mit Hilfe einer speziell angefertigten Schablone aus Aluminium, welche runde Bohrungen von 3 mm Durchmesser bei einer Dicke von 2 mm besaß. Die Prüfkörpergröße ist relevant zur Größe kleinerer Füllungen, wie sie auch in der täglichen Praxis vorgenommen werden (z.B. Zahnhalsfüllungen). Es ergab sich eine Oberfläche der Probekörper von 32,97 mm<sup>2</sup>. Die vom Hersteller pastenförmig gelieferten Testmaterialien wurden mit zahnärztlichen Instrumenten in die vorgebohrten Kavitäten der Schablone eingebracht und dann nach Herstellerangaben entsprechend lange von beiden Seiten mit einem zahnärztlichen Lichtleitgerät beleuchtet (z.B. Spectrum 20 s lang). Anschließend erfolgte die Entfernung der Probekörper aus der Schablone und die Massebestimmung mit Hilfe einer Analysenwaage. Um ein möglichst keimfreies Arbeiten zu gewährleisten, fand im Anschluss die Sterilisation der Probekörper im Autoklaven im heißen Wasserdampf für 30 Minuten bei einer Temperatur von 136 Grad Celsius und einem Druck von 2,3 bar statt. Der Versuch mit EZ4U erfolgte immer direkt im Anschluss an diese vorbereitenden Maßnahmen.

Die fertigen Prüfkörper von dieser bestimmten Größe wurden mit sterilen Pinzetten direkt in die entsprechenden Kavitäten der Mikrotiterplatten gegeben, wobei zur Erzielung unterschiedlicher Dosen ein bis vier Stücke der Körper oder aber auch ½- bzw. ¼-Körper für die geringeren Dosen in je eine Kavität kamen.

Die Herstellung und Verwendung der Prüfkörper der Dentalzemente Ionofil Molar und Cupro Dur N spielte sich analog der Herstellung der Komposite und Kompomere ab, außer dass sie chemisch anstatt mit Licht aushärteten. Die Abbindezeiten lagen hier bei 90 - 120 s (Cupro Dur N) und 210 s (Ionofil Molar). Auch ihre Verarbeitung geschah genau nach Herstellerangaben, und es erfolgte die Autoklavierung.



Auf Grund der geringeren Härte im Gegensatz zu den Kompositen und Kompomeren wurden die Dentalzemente auch als Pulver getestet, somit ergab sich eine Oberflächenvergrößerung gegenüber dem Prüfkörper als ganzem. Dazu wurde der Prüfkörper nach der standardgerechten Herstellung im Mörser zerrieben, bis sich feinstes Pulver ergab. Von diesem Pulver wurden dann kleinste Mengen abgewogen und in die Kavitäten der Mikrotiterplatten gefüllt.

Die Bioglaskeramik Bioverit II wurde so getestet, wie sie die Firma VITRON aus Jena zur Verfügung gestellt hatte. Das war erstens in Würfelform bei einer Seitenlänge von ca. 4,7 mm (Oberfläche 132,54 mm<sup>2</sup>) bei einer durchschnittlichen Masse von 94,67 mg und zweitens in Pulverform, wobei wieder kleinste Mengen eingewogen wurden.

Weiterhin wurden die Monomere TEGDMA, HEMA und MA getestet, die als farblose, ölige, typisch riechende Flüssigkeiten vorlagen und mit bestimmter Einwaage in die Plattenkavitäten gegeben wurden.

Die Quecksilberverbindungen Quecksilber(II)-chlorid und Methylquecksilberchlorid (Positivkontrollen) lagen als Pulver vor und wurden in Kleinstmengen abgewogen. Aus diesen Mengen ließen sich Ausgangskonzentrationen und daraus Verdünnungsreihen herstellen. Die unterschiedlichen Konzentrationen der Verdünnungsreihen wurden in die Kavitäten der Mikrotiterplatten pipettiert.

Bei allen Stoffen erfolgte die Auffüllung der Kavitäten mit Medium, Zellsuspension und EZ4U-Lösung wie unter 5.3. beschrieben.

## **5.5. Extraktionsbedingungen für den Extraktionsversuch mit Spectrum**

Des Weiteren ist mit dem Komposit Spectrum der Versuch mit seinem Eluat durchgeführt worden. Die Extraktionsbedingungen waren dabei folgende:

Es wurde jeweils ein Reagenzglas mit ¼, ½, 1, 1,5 Prüfkörpern von Spectrum in 1 ml RPMI-1640-Medium ohne L-Glutamin für 72 Stunden bei 37°C inkubiert, damit sich ein Eluat bilden konnte. Nach dieser Zeit wurden aus jedem Röhrchen 3 x 100 µL entnommen und in Kavitäten auf der Mikrotiterplatte gefüllt. Zu jeder Eluatprobe wurden 100 µL Zellsuspension gegeben.

Nach der Plattenbelegung erfolgte die Exposition im Begasungsbrutschrank bei 37°C und einer CO<sub>2</sub>-Konzentration von 5% für 24 und 48 Stunden.

Anschließend wurde wie bei den anderen Versuchen verfahren:

Bestückung der Platten mit dem Substrat EZ4U, erneute Inkubation von zwei Stunden und anschließende Messung im Mikrotiterplattenreader und entsprechende Berechnungen.

## **5.6. Auswertung der Messergebnisse**

### **5.6.1. Bestimmung der Zytotoxizität**

Als direkte Ergebnisse nach jedem Versuch wurden die Werte für die Absorptionen in den einzelnen Kavitäten als Ausdruck aus dem Mikrotiterplattenreader erhalten. Es ergaben sich Werte für die Absorptionen der Kavitäten mit den Testmaterialien, für die Absorptionen der Zellkontrolle sowie für die Absorptionen der BLANK-Werte.

#### Berechnung der Zytotoxizität:

Grundlage für die Ermittlung der Zytotoxizitäten der einzelnen Stoffe und Konzentrationen bildeten die gemessenen Absorptionswerte.

Mit ihrer Hilfe berechnet man nach folgender Formel die Zytotoxizitäten (CT):

$$CT = \frac{X_0 - X_i}{X_0} \times 100 [\%]$$

$X_0$ .....Mittelwert der Absorptionen der Zellkontrolle

$X_i$ .....Mittelwert der Absorptionen der mit Testsubstanz behandelten Zellen

Mittel bedeutet arithmetisches Mittel der Werte der jeweiligen Messreihe einer Konzentration. Die Zytotoxizitäten ergaben sich also direkt aus den ermittelten Messwerten. Die berechneten Werte sind prozentuale Werte.

Für jede Konzentration der einzelnen Stoffe wurde dann ein Zytotoxizitätswert ermittelt und zur grafischen Darstellung verwendet. Somit resultierte für jeden Stoff eine Kurve durch Auftragung der Konzentrationen auf der x-Achse, die logarithmisch eingeteilt wurde, und durch Auftragung der Zytotoxizitätswerte auf der y-Achse.

Zum Beispiel wurde für das Kompomer Dyract im 2. Versuch bei einer Stunde Exposition für eine Einwaage von 13,57 mg/0,2 ml eine Zytotoxizität von 8,49% ermittelt. Dies geht aus folgender Berechnung hervor:

$$CT = \frac{1,45 \text{ (Mittelwert Zellkontrolle)} - 1,3269 \text{ (Mittelwert für 13,57mg Einwaage)}}{1,45 \text{ (Mittelwert Zellkontrolle)}} \times 100 [\%]$$

CT = 8,49%.

Anschließend erfolgte die Eintragung des erhaltenen Wertes in die entsprechende Kurve.

Jede Testsubstanz wurde in mindestens drei unabhängigen Versuchen getestet. Aus diesen drei Versuchen ergaben sich die mittleren Werte der Zytotoxizitäten für die einzelnen Stoffe, welche dann als Endergebnis ausgewertet wurden. Auch grafisch erfolgte eine Zusammenfassung der drei einzelnen Versuche in eine Gesamtkurve, die die Abhängigkeit der Zytotoxizität der einzelnen Stoffe von den jeweils eingewogenen Konzentrationen zeigt.

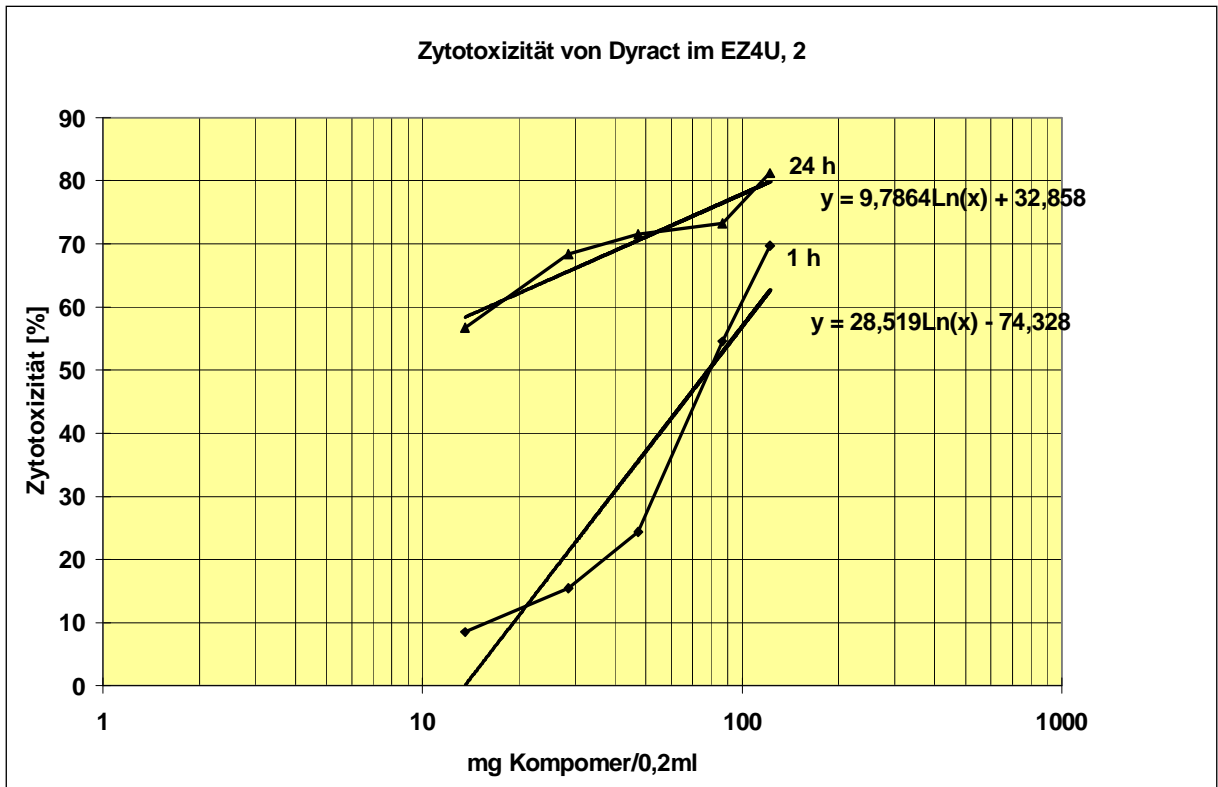
### 5.6.2. Berechnung der zytotoxischen Kenngrößen

Weiterhin sind für alle getesteten Stoffe die halbmaximalen zytotoxischen Dosen (CD<sub>50</sub>-Werte) berechnet worden, das heißt diejenigen Stoffmengen/0,2ml, bei denen die Tetrazoliumreduktion der Zellen um 50% vermindert ist. Dies erfolgte mit Hilfe der Berechnung aus der logarithmischen Trendlinie (Giersch, 1999). Außerdem wurden die CD<sub>10</sub>-bzw. CD<sub>90</sub>-Werte ermittelt, die Stoffmengen/0,2ml, bei denen die Tetrazoliumreduktion der Zellen um 10% bzw. 90% vermindert ist. Bei diesen Werten handelt es sich um zytotoxische Kenngrößen. Im Anhang sind die den logarithmischen Trendlinien zugrunde liegenden Werte in den Tabellen grau markiert. In der vorliegenden Arbeit wurden CD-Werte statt CC-Werte (zytotoxische Konzentrationen) bei den Stoffen berechnet, die wegen ihrer Wasserunlöslichkeit nur in fester Form geprüft werden konnten und sich hier keine Konzentrationsreihen bilden ließen. Für die löslichen Stoffe wurden CC-Werte berechnet.

Die logarithmischen Trendlinien ergaben sich aus den oben beschriebenen grafischen Darstellungen für jeden einzelnen Stoff mit Hilfe des Computerprogramms

Excel. Aus den Geradengleichungen für die Trendlinien ließen sich die Werte für  $CD = 50\%$ ,  $CD = 90\%$  und  $CD = 10\%$  für alle Stoffe berechnen. Die zytotoxischen Kenngrößen erlauben einen Vergleich der geprüften Werkstoffe untereinander. Aus den zytotoxischen Kenngrößen der einzelnen Versuche wurden die Konfidenzgrenzen für die einzelnen Stoffe ermittelt.

In Abbildung 4 sind die logarithmischen Trendlinien und die dazugehörigen Geradengleichungen für ein Versuchsbeispiel dargestellt.



**Abb. 4: Dosis-Wirkungskurven des Kompomers Dyract mit logarithmischen Trendlinien und Geradengleichungen**

An diesem Beispiel erläutert ergibt sich folgendes:

Die Geradengleichung der logarithmischen Trendlinie für das Kompomer Dyract im 2. Versuch lautet für die Expositionszeit von einer Stunde:  $y = 28,519\ln(x) - 74,328$ . Nimmt man für  $y = 50$  an, erhält man durch Umstellung und Berechnung einen  $CD_{50}$ -Wert von 78,22 mg/0,2ml.

Analog wurden die  $CD_{10}$ - und  $CD_{90}$ -Werte ermittelt. Die Berechnungen dieser Werte erfolgten für alle einzelnen Versuche.

Wie auch bei den Zytotoxizitäten sind dann ebenfalls für die einzelnen Stoffe die Mittelwerte aus drei Versuchen pro Testsubstanz berechnet worden und so die endgültigen Ergebnisse für alle Stoffe entstanden.

Um das Konfidenzintervall zu ermitteln, erfolgte die Logarithmierung aller einzelner CC- oder CD- Werte einer Versuchsreihe und die Mittelwertsberechnung und Standardabweichungsberechnungen dieser erhaltenen Logarithmen. Anschließend wurden von den Mittelwerten die Standardabweichungen addiert bzw. subtrahiert und die erhaltenen Werte wieder entlogarithmiert. Der kleinere so erhaltene Wert stellt die untere Grenze und der größere Wert die obere Grenze des Schwankungsbereiches der Ergebnisse dar. Der Mittelwert liegt zwischen diesen beiden Grenzwerten.

Am Beispiel des Kompomeres Dyract wiederum betragen die auf diesem Wege errechneten Konfidenzgrenzen für den  $CD_{50}$ -Wert für eine Stunde:  $CD_{50} = 88,23$  (74,74-104,17) mg/0,2ml. Der Schwankungsbereich ist in den Klammern angegeben. Der Wert vor den Klammern entspricht dem Mittelwert.

Auf diesem Wege wurden die Konfidenzgrenzen für alle einzelnen Stoffe bestimmt. Zur Auswertung der Messergebnisse wurden also die Zytotoxizitäten, die zytotoxischen Kenngrößen (CC- und CD-Werte) und die Konfidenzgrenzen der einzelnen Testsubstanzen ermittelt und grafische Darstellungen angefertigt. Die Ergebnisse für die Testmaterialien wurden dann in den einzelnen Stoffgruppen ausgewertet und untereinander verglichen.

## **5.7. Statistische Verfahren**

Die statistische Auswertung von Versuchen wird unter anderem durch die Zahl der Wiederholungen bestimmt. In der vorliegenden Arbeit beträgt die Zahl der Wiederholungen pro Gruppe  $n = 3$ .

Diese Zahl ist für vertiefte statistische Analysen zu gering.

Für jede Gruppe und jedes Merkmal wurden die statistischen Kennzahlen Mittelwert ( $\bar{x}$ ), Standardabweichung (STABW) und mittlerer Fehler (SE) berechnet. Diese statistischen Parameter können als Basis für eine descriptive Beschreibung der Ergebnisse benutzt werden. SD macht eine Aussage über die Streuung der Einzelwerte, SE gibt Hinweise auf die Schätzgenauigkeit des Mittelwertes (Rinne und Ickler, 1986).

Statistische Tests bzw. Signifikanzberechnungen wurden nicht durchgeführt. Die Berechnung und die Interpretation von Irrtumswahrscheinlichkeiten sind bei einem Stichprobenumfang von  $n = 3$  mit zu vielen Unsicherheiten behaftet. Statistische Fehlschlüsse bei dem Schluß von der Stichprobe auf die Grundgesamtheit sind nicht ausgeschlossen.

In den grafischen Darstellungen sind die Mittelwerte und deren mittlere Fehler eingezeichnet.

## 6. Ergebnisse

Für alle untersuchten zahnärztlichen Werkstoffe bzw. deren Inhaltsstoffe sowie für die Quecksilberverbindungen werden im nachfolgenden Kapitel alle erhaltenen Ergebnisse nacheinander aufgeführt. Es wurden die Zytotoxizitäten der einzelnen Stoffe ausgewertet und die zytotoxischen Kenngrößen  $CD_{10}$ ,  $CD_{50}$  und  $CD_{90}$  mit ihren Konfidenzgrenzen berechnet. Im Kapitel 6.2. sind die morphologischen Veränderungen der U937-Zellen dargestellt.

### 6.1. Zytotoxizität der einzelnen Werkstoffe und zytotoxische Kenngrößen mit Konfidenzgrenzen

Die Werte für die Zytotoxizitäten werden für jeden Stoff einzeln aufgeführt. Es sind die Werte, die sich aus den drei unabhängigen Einzelversuchen desselben Werkstoffes zusammensetzen.

Die Einwaagen variieren von Stoff zu Stoff. Dieses kommt daher, dass sich unterschiedliche Gewichte nach Herstellung der Prüfkörper in dem unter 5.4. beschriebenen Verfahren aufgrund der unterschiedlichen Zusammensetzung sowie der unterschiedlichen Strukturen der Substanzen bei gleichen Abmessungen und gleichen Oberflächen ergeben haben. Die Gewichte sind nachfolgend in den grafischen Darstellungen als Dosen aufgeführt und die Zytotoxizitäten in Prozent angegeben. Die senkrechten Linien stellen die mittleren Fehler dar, die sich aus drei Versuchen pro Teststoff ergeben.

Im Anschluss an die Darstellungen der Zytotoxizitäten sind die zytotoxischen Kenngrößen (CD-Werte) für jede Werkstoffgruppe vergleichend aufgeführt und ihre Konfidenzgrenzen genannt. Hierbei sagen die kleinsten Werte jeweils aus, welche Stoffe am toxischsten sind, da 10%, 50% bzw. 90% der Zellen bereits bei dieser Konzentration absterben. Die Stoffe mit den höchsten CD-Werten schädigen somit am wenigsten die Zellen.

Aufgrund der wenig abgestuften Zytotoxizität bei 24 Stunden Exposition, alle Werte lagen über 50%, ließen sich in manchen Fällen keine CD-Werte für diese Versuche berechnen. Wo CD-Werte für 24 Stunden berechnet wurden, sind die Ergebnisse aufgeführt und dargestellt.

Die zytotoxischen Kenngrößen  $CD_{10}$ ,  $CD_{50}$  und  $CD_{90}$  ergaben sich aus den Berechnungen der Geradengleichungen der logarithmischen Trendlinie der drei Einzelversuche. Als Parameter zur Beurteilung des zellschädigenden Potenzials der

Testsubstanzen sind sie gut geeignet. Außerdem lassen sie einen Vergleich untereinander in den jeweiligen Stoffgruppen zu.

### 6.1.1. Komposite

#### Zytotoxizitäten

##### 6.1.1.1. Glacier

In Abbildung 5 zeigt Glacier nach einstündiger Exposition einen starken Anstieg der Zytotoxizität ab einer Dosis von 54 mg/0,2ml von 26% bis auf fast 80% bei einer Dosis von 110 mg/0,2ml.

Nach 24 h Exposition dagegen verläuft der Anstieg der Zytotoxizität gleichmäßiger („linearer“) von 50% bei einer Dosis von 14 mg/0,2ml bis zu fast 87% bei 110 mg/0,2ml.

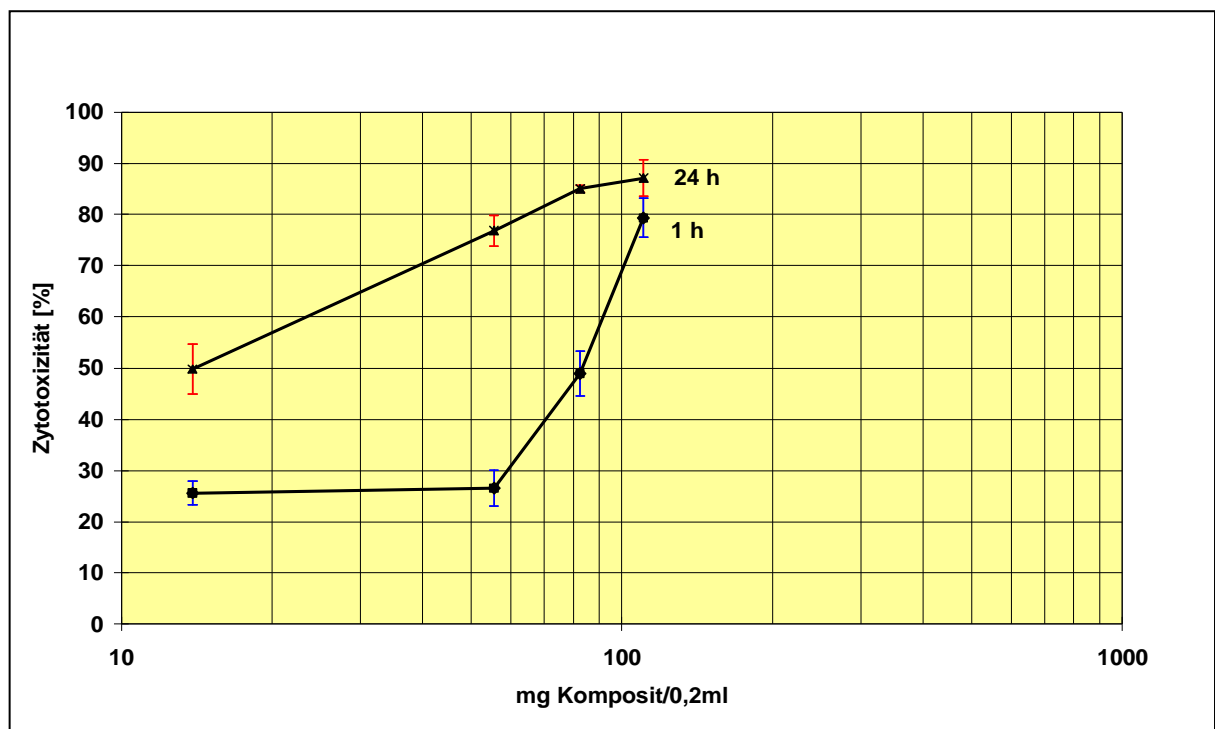


Abb.5: Zytotoxizität des Komposites Glacier gegenüber U937-Zellen nach 1- und 24-stündiger Exposition bei 37°C.  
XTT-Reduktionstest EZ4U (  $\bar{x} \pm \text{SE}$ ; n=3)



### 6.1.1.2. Wave

Bei Wave zeigt sich in der Dosis-Wirkungskurve (Abb.6) bei einstündiger Exposition ein steilerer Anstieg als bei 24-stündiger Exposition. Nach einer Stunde ist der größte Anstieg der Zytotoxizität bei einer Dosis von 13,87 mg/0,2ml zu erkennen. Bei 24 h Exposition dagegen ist ein weniger steiler Anstieg der Zytotoxizität mit steigender Dosis zu verzeichnen.

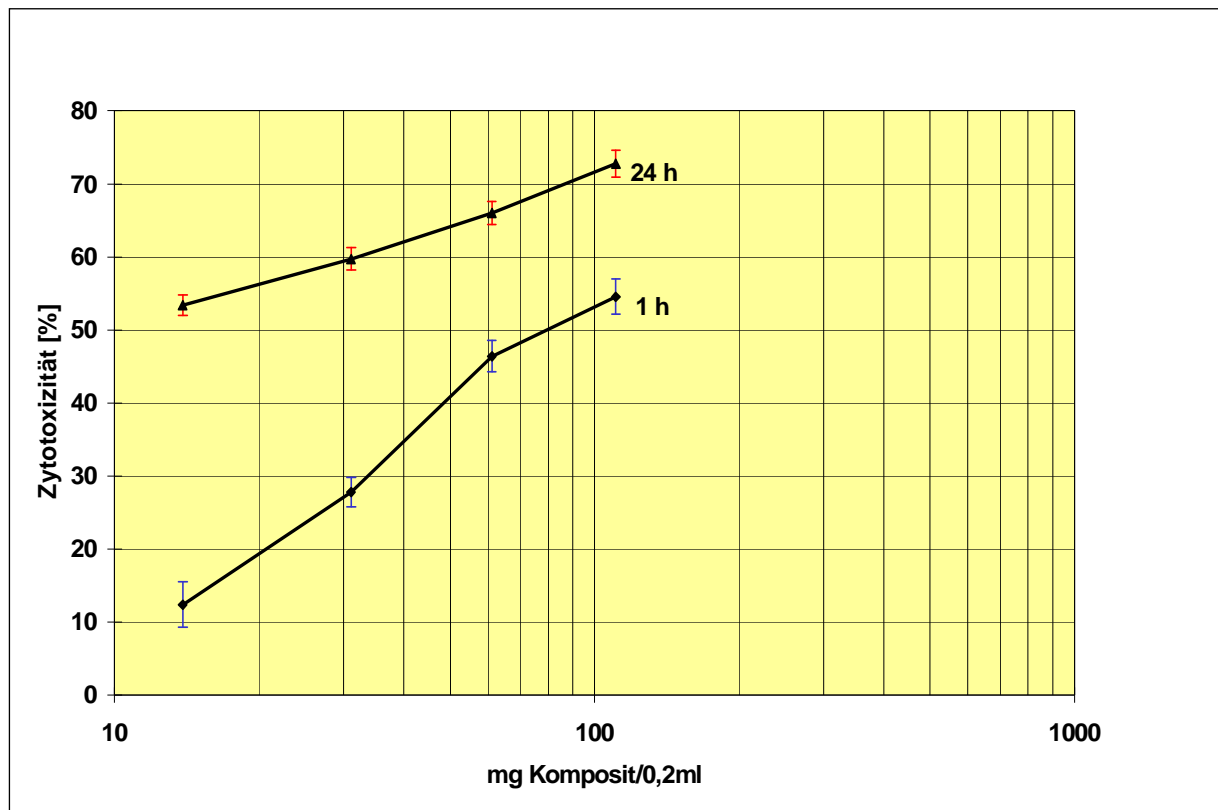
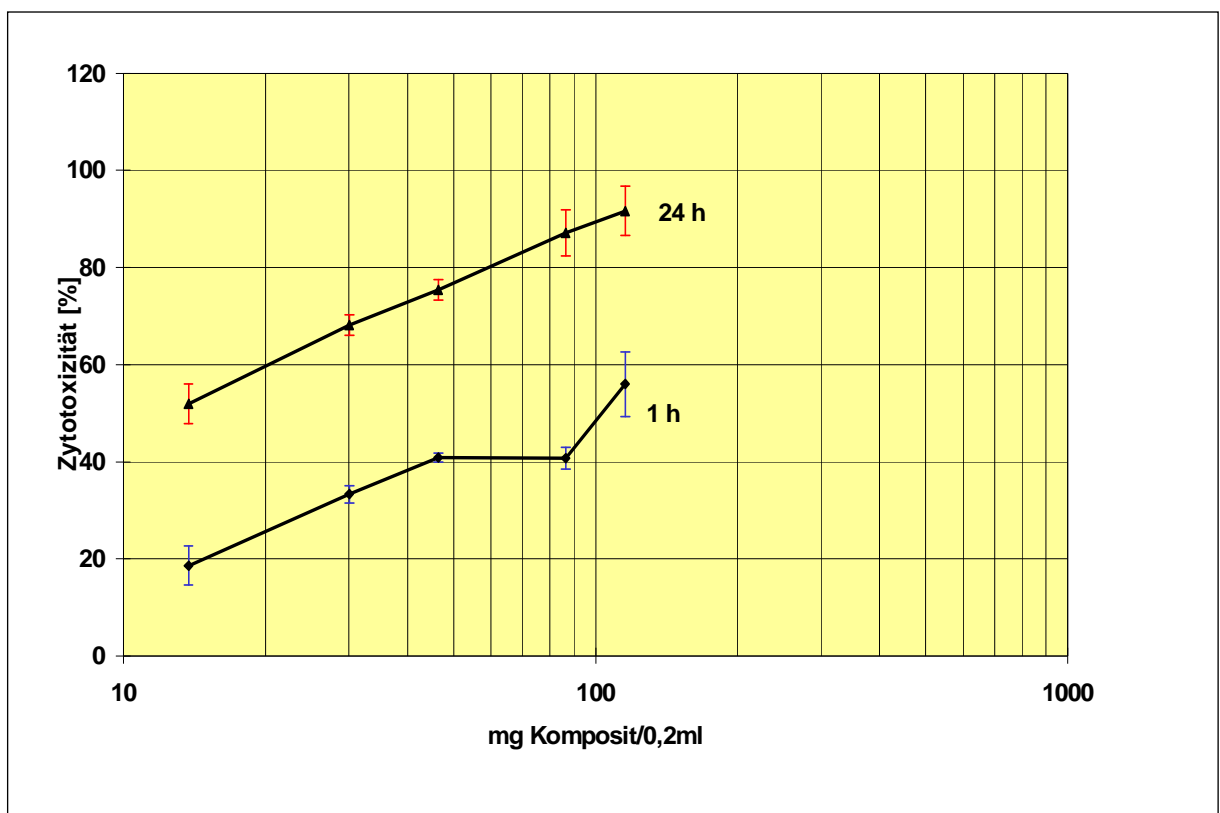


Abb.6: Zytotoxizität des Komposites Wave gegenüber U937-Zellen nach 1- und 24-stündiger Exposition bei 37°C.  
XTT-Reduktionstest EZ4U (  $\bar{x} \pm \text{SE}$ ; n=3)

### 6.1.1.3. Spectrum

Im Versuch mit Spectrum zeigt sich bei einer Exposition von einer Stunde eine unveränderte Zytotoxizität bei Dosen von 46,45 und 86,47 mg/0,2ml (ca. 40%), wie in der Dosis-Wirkungskurve (Abb.7) zu sehen ist. Vor und nach diesen Einwaagen erhöht sich die Zytotoxizität mit steigender Dosis der Testsubstanz wie auch bei 24-stündiger Exposition kontinuierlich.

Die Zytotoxizität liegt, wie bei den anderen Kompositen auch, bei einer Exposition von 24h wieder höher als bei einstündiger Exposition.

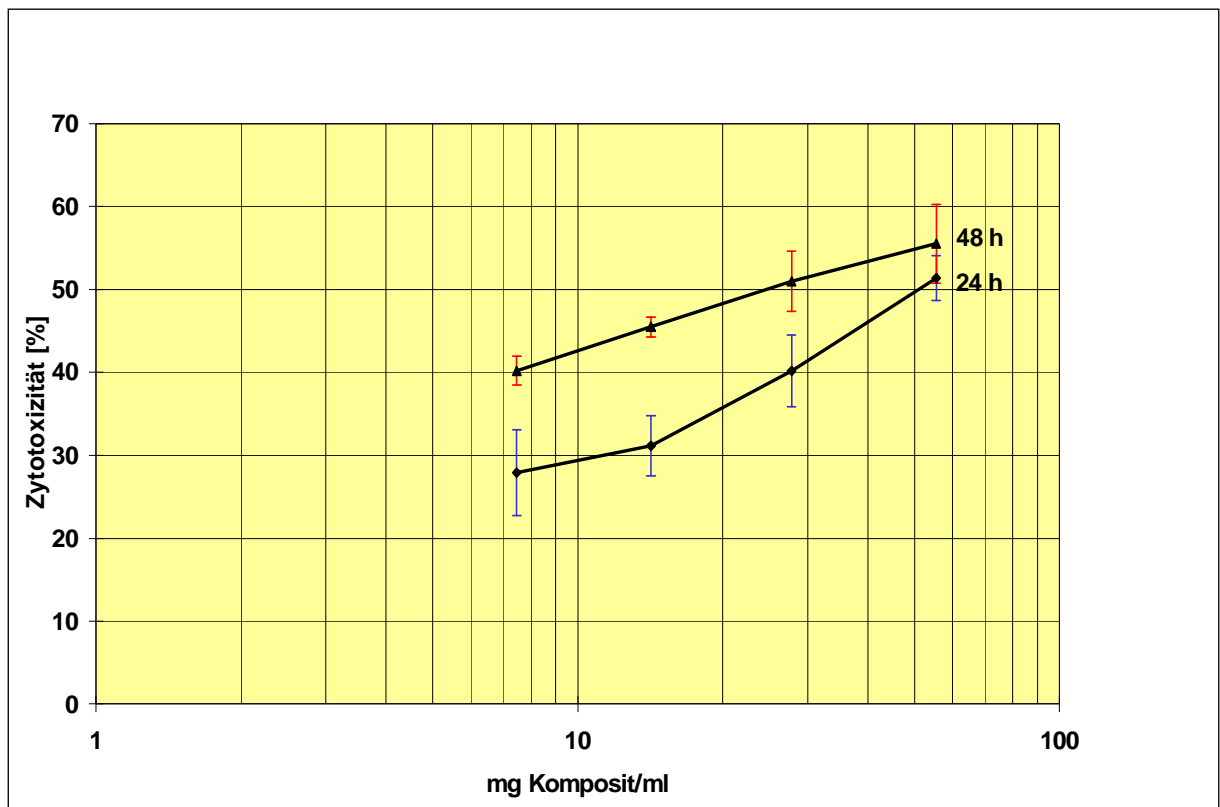


**Abb.7: Zytotoxizität des Komposites Spectrum gegenüber U937-Zellen nach 1- und 24-stündiger Exposition bei 37°C.  
XTT-Reduktionstest EZ4U (  $\bar{x} \pm SE$ ; n=3)**

#### 6.1.1.4. Spectrum nach 72-stündiger Extraktion

In der Dosis-Wirkungskurve des extrahierten Spectrums (Abb.8) zeigt sich, dass mit steigender Einwaage bei Expositionen von 24 bzw. 48 Stunden die Zytotoxizität relativ wenig ansteigt (28-51% bzw. 40-55%).

Außerdem wird deutlich, dass die längere Exposition eine ähnlich starke Zytotoxizität bei gleicher Einwaage hervorruft wie eine Exposition von 24 Stunden.



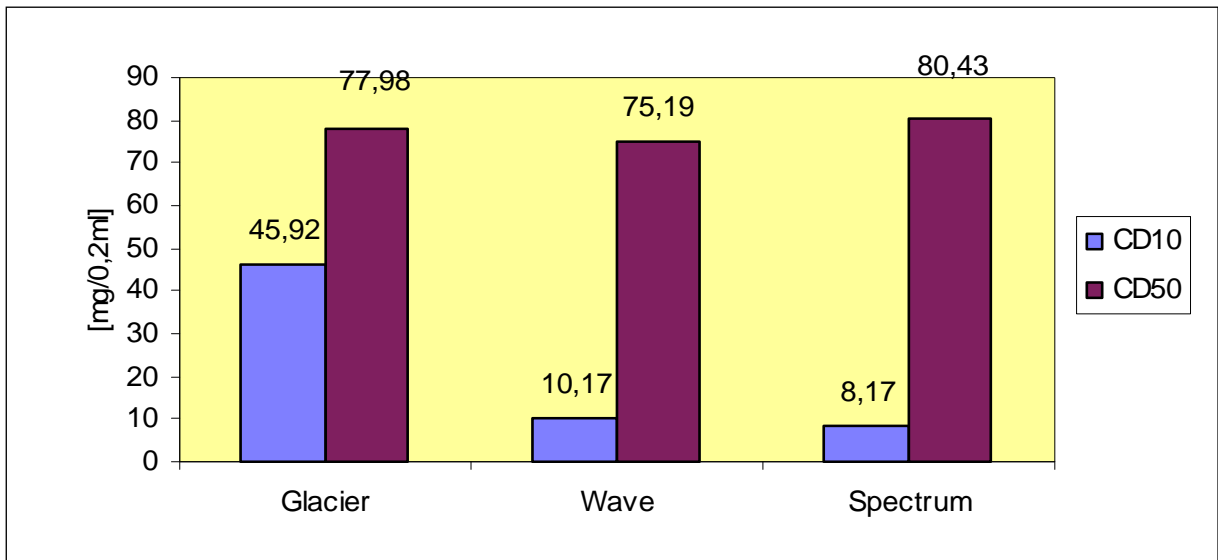
**Abb.8:** Zytotoxizität des Komposites Spectrum nach 72-stündiger Extraktion im EZ4U gegenüber U937-Zellen nach 24- und 48-stündiger Exposition bei 37°C. XTT-Reduktionstest EZ4U (  $\bar{x} \pm \text{SE}$ ; n=3)

## Zytotoxische Kenngrößen und Konfidenzgrenzen

**Tabelle 1: CD-Werte der Komposite bei 1h Exposition**

CD <sub>10</sub> -Spectrum	8,17 (5,56-9,58) mg/0,2ml
CD <sub>10</sub> -Wave	10,17 (5,1-19,88) mg/0,2ml
CD <sub>10</sub> -Glacier	45,92 (41,35-46,99) mg/0,2ml
CD <sub>50</sub> -Wave	75,19 (55,15-139,77) mg/0,2ml
CD <sub>50</sub> -Glacier	77,98 (70,88-84,01) mg/0,2ml
CD <sub>50</sub> -Spectrum	80,34 (57,4-135,23) mg/0,2ml
CD <sub>90</sub> -Glacier	132,4 (121,5-148,41) mg/0,2ml
CD <sub>90</sub> -Wave	555,57 (401,82-768,16) mg/0,2ml
CD <sub>90</sub> -Spectrum	790,21 (445,86-2540,2) mg/0,2ml

In der vorstehenden Tabelle 1 sind die errechneten CD-Werte für die Komposite nach einer Stunde Exposition an U937-Zellen aufgeführt. Die folgende Abbildung 9 zeigt diese Werte in grafischer Form.

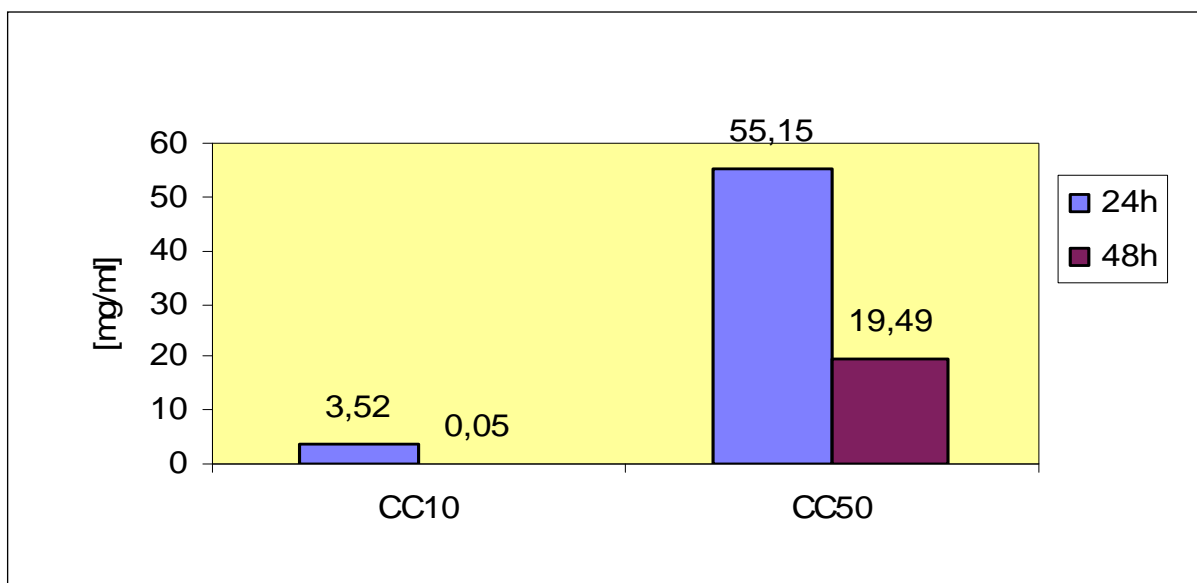


**Abb.9: Stoffmengen der Komposite [mg/0,2ml] bei 10 und 50% Zytotoxizität (1h Exposition)**

**Tabelle 2: CC-Werte von Spectrum bei 72-stündiger Extraktion**

	24h Exposition	48h Exposition
CC <sub>10</sub>	3,52(3,03-4,09) mg/ml	0,05(0,003-0,94) mg/ml
CC <sub>50</sub>	55,15(43,4-70,1) mg/ml	19,49(18,4-20,6) mg/ml

In der vorstehenden Tabelle 2 sind die errechneten CC-Werte (CC<sub>10</sub> und CC<sub>50</sub>) für Spectrum nach 72-stündiger Extraktion an U937-Zellen bei 24 und 48 Stunden Exposition aufgeführt. In der folgenden Abbildung 10 erfolgte die zugehörige grafische Darstellung.



**Abb.10: Konzentration [mg/ml] von Spectrum nach 72-stündiger Extraktion bei 10 und 50% Zytotoxizität (24 und 48 h Exposition)**

## 6.1.2. Kompomere

### Zytotoxizitäten

#### 6.1.2.1. F2000

Bei F2000 zeigt sich mit steigender Einwaage sowohl bei einer Stunde Exposition als auch nach 24 Stunden Exposition ein stetiger Anstieg der Zytotoxizität wie in der Dosis-Wirkungskurve (Abb.11) ersichtlich ist. Die Zytotoxizität liegt bei 24 Stunden Exposition bei einer niedrigen Einwaage von 24,33 mg/0,2ml etwa 3,7-fach höher und bei einer hohen Einwaage von 79,69 mg/0,2ml nur noch etwa 1,5-fach höher als nach einer Stunde Exposition. Wie bei den meisten getesteten Substanzen sind die Unterschiede in der Zytotoxizität bei kurzer Exposition höher.

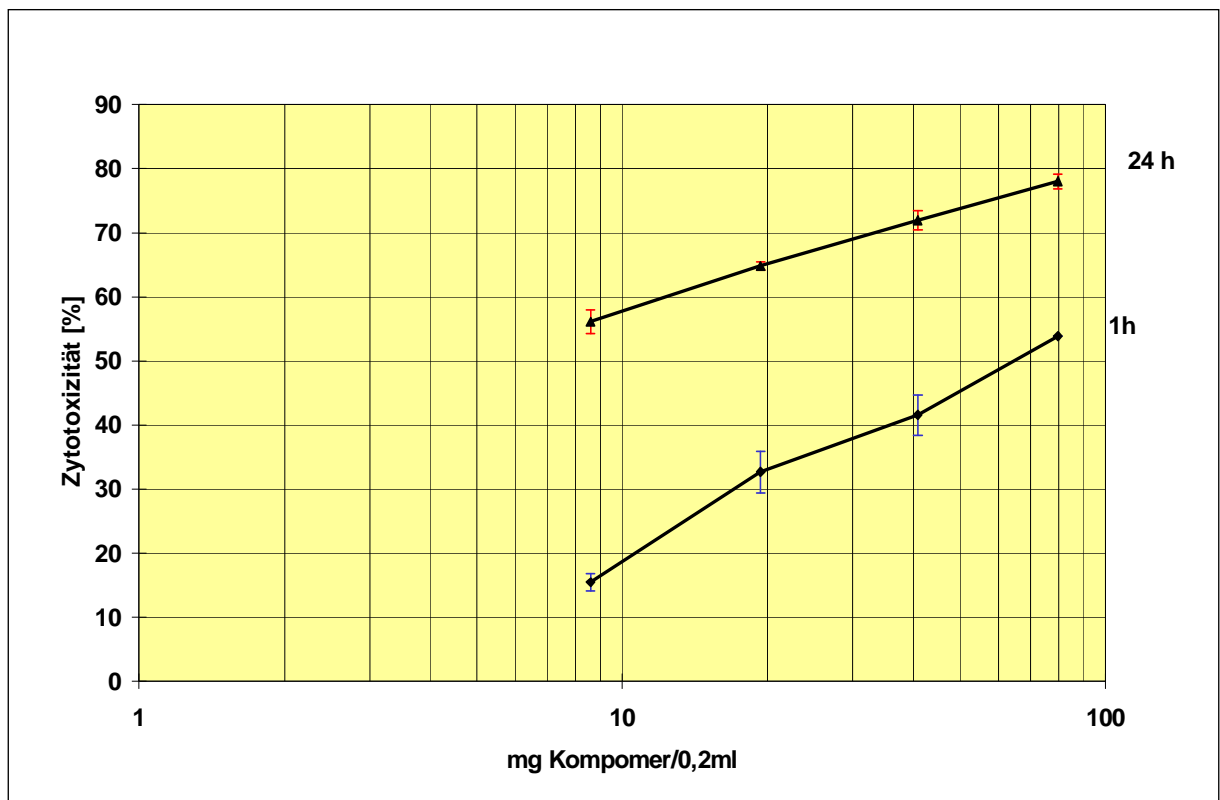


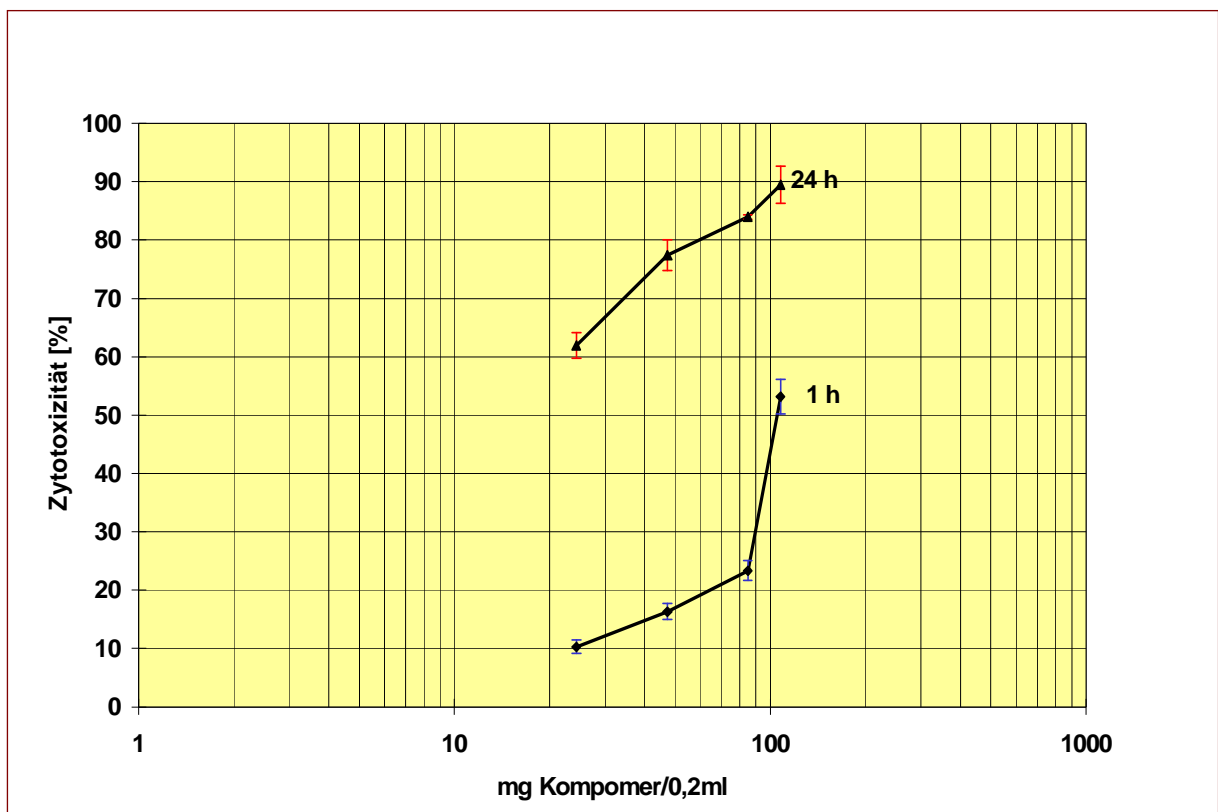
Abb.11: Zytotoxizität des Kompomeres F2000 gegenüber U937-Zellen nach 1- und 24-stündiger Exposition bei 37°C.

XTT-Reduktionstest EZ4U (  $\bar{x} \pm \text{SE}$ ; n=3)

### 6.1.2.2. Freedom

Im Falle von Freedom wird bei einer Stunde Exposition ein starker Anstieg der Zytotoxizität beim Sprung von einer Dosis von 84,89 mg/0,2ml auf 101,71 mg/0,2ml um mehr als das Doppelte deutlich, wie in Abbildung 12 zu sehen ist. Vermutlich liegt in diesem Dosisbereich das größte Potenzial der Zellschädigung bzw. der Abtötung der Zellen.

Bei einer Exposition von 24 Stunden verläuft mit steigender Dosis die Zunahme der Zytotoxizität weniger steil: von fast 62% bei 24,33mg/0,2ml Einwaage auf 89,47% bei 101,71 mg/0,2ml.



**Abb.12: Zytotoxizität des Kompomeres Freedom gegenüber U937-Zellen nach 1- und 24-stündiger Exposition bei 37°C.**  
XTT-Reduktionstest EZ4U (  $\bar{x} \pm \text{SE}$ ; n=3)

### 6.1.2.3. Dyract

Auch bei dem Kompomer Dyract wird bei kleinerer Exposition von 1h ein stärkerer Anstieg der Zytotoxizität mit steigender Einwaage deutlich: von 8,74% bei einer Einwaage von 16,69 mg/0,2ml auf 69,71% bei einer Einwaage von 120,32 mg/0,2ml. Bei einer Exposition von einer Stunde verläuft der Anstieg der Zytotoxizität geringer: von 58,95% auf 79,37%.

Weiterhin wird aus der Dosis-Wirkungskurve (Abb.13) ersichtlich, dass Dyract bereits nach einer Stunde Exposition mit steigender Einwaage ein großes zytotoxisches Potenzial entfaltet.

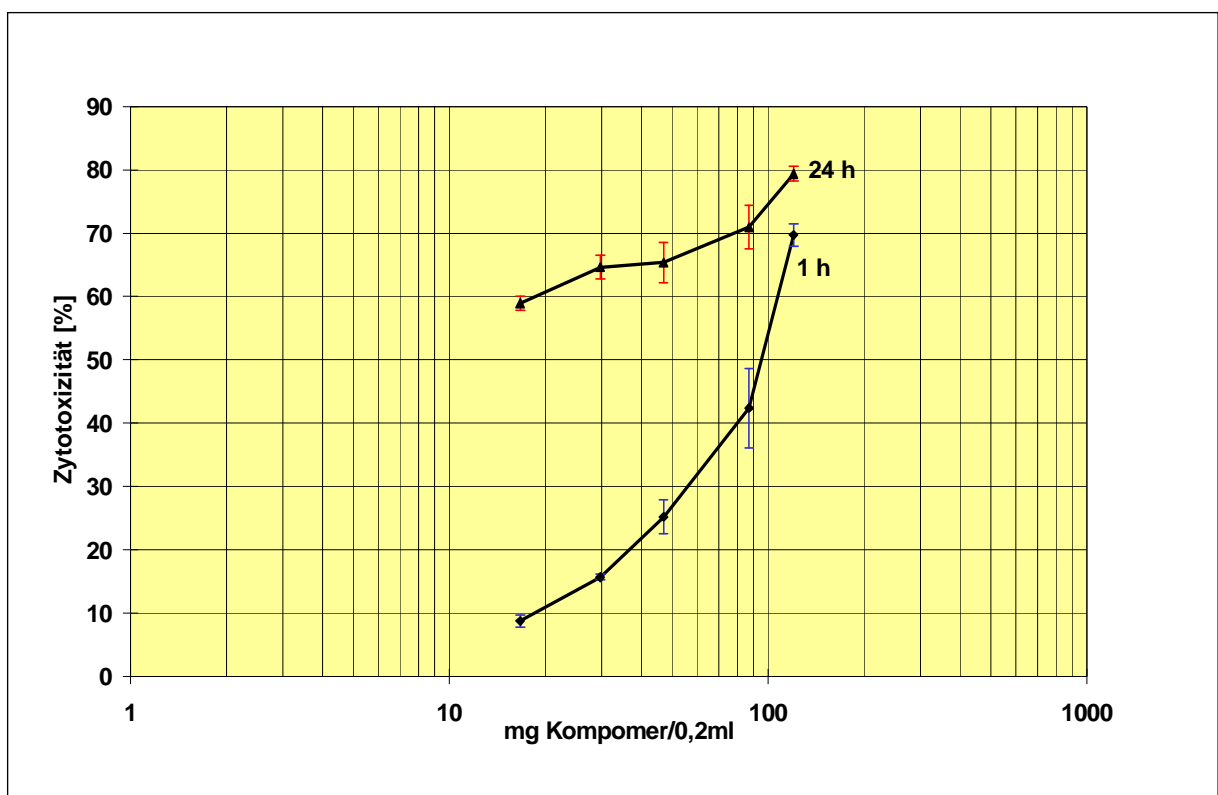


Abb.13: Zytotoxizität des Kompomeres Dyract gegenüber U937-Zellen nach 1- und 24-stündiger Exposition bei 37°C.  
XTT-Reduktionstest EZ4U (  $\bar{x} \pm \text{SE}$ ; n=3 )

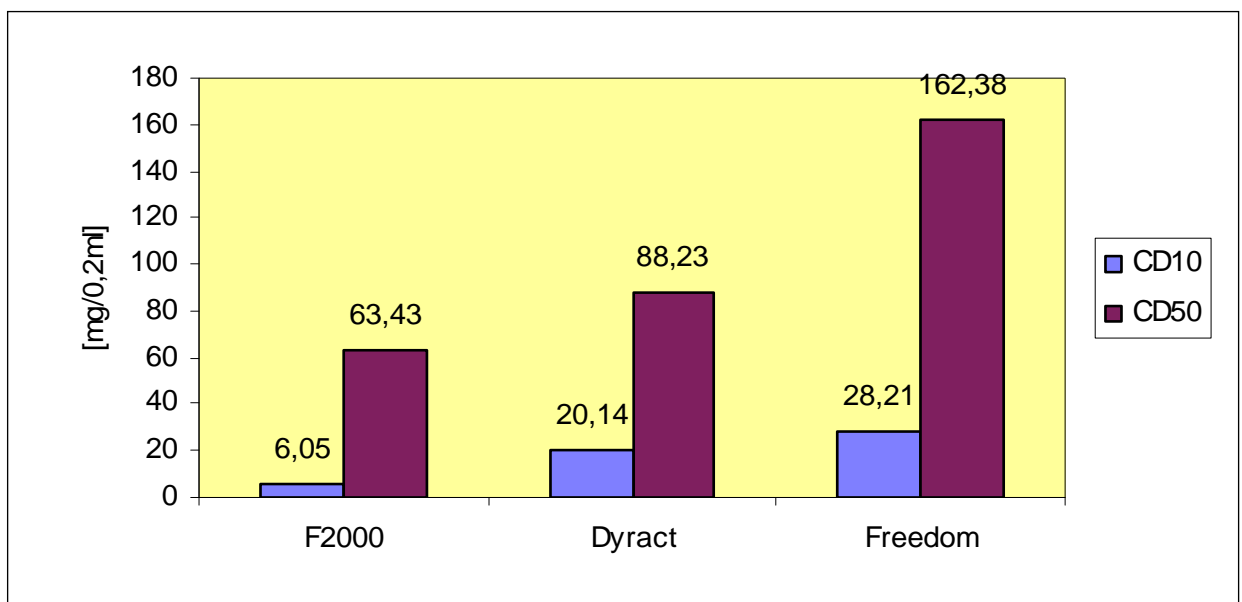


## Zytotoxische Kenngrößen

**Tabelle 3: CD-Werte der Kompomere bei 1h Exposition**

CD <sub>10</sub> -F2000	6,05 (4,8-7,61) mg/0,2ml
CD <sub>10</sub> -Dyract	20,14 (19,1-21,11) mg/0,2ml
CD <sub>10</sub> -Freedom	28,21 (27,93-28,5) mg/0,2ml
CD <sub>50</sub> -F2000	63,43 (53,5-75,19) mg/0,2ml
CD <sub>50</sub> -Dyract	88,23 (74,74-104,17) mg/0,2ml
CD <sub>50</sub> -Freedom	162,38 (146,93-179,46) mg/0,2ml
CD <sub>90</sub> -Dyract	387,61 (292,95-179,46) mg/0,2ml
CD <sub>90</sub> -F2000	671,83 (555,57-812,4) mg/0,2ml
CD <sub>90</sub> -Freedom	934,48 (765,09-114,38) mg/0,2ml

In der vorstehenden Tabelle 3 sind die errechneten CD-Werte für die Kompomere nach einer Stunde Exposition an U937-Zellen aufgeführt. Die folgende Abbildung 14 verdeutlicht die CD-Werte grafisch.



**Abb.14: Stoffmengen der Kompomere [mg/0,2ml] bei 10 und 50% Zytotoxizität (1h Exposition)**

### 6.1.3. Dentalzemente

#### Zytotoxizitäten

##### 6.1.3.1. Ionofil Molar (ganzer Prüfkörper)

Auch bei dem Glasionomerzement Ionofil Molar zeigt sich mit zunehmender Dosis eine Erhöhung der Zytotoxizität. Diese verläuft nach einer Stunde Exposition steiler als nach 24 Stunden Exposition. Die Zytotoxizität liegt bei einer Exposition von 24 Stunden und einer Einwaage von 12,78 mg/0,2ml rund 2,5 fach höher und bei einer Einwaage von 78,77 mg/0,2ml rund 1,2 mal höher als bei einer Stunde Exposition (Abb.15).

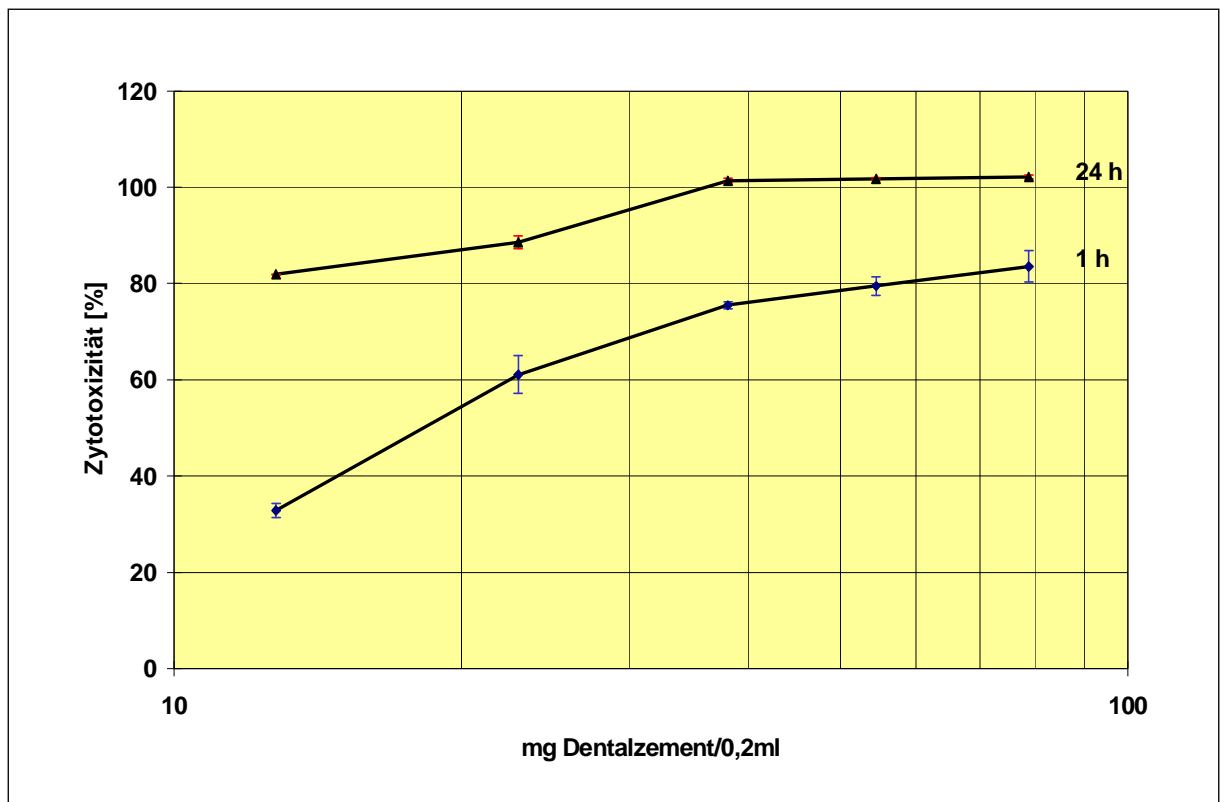
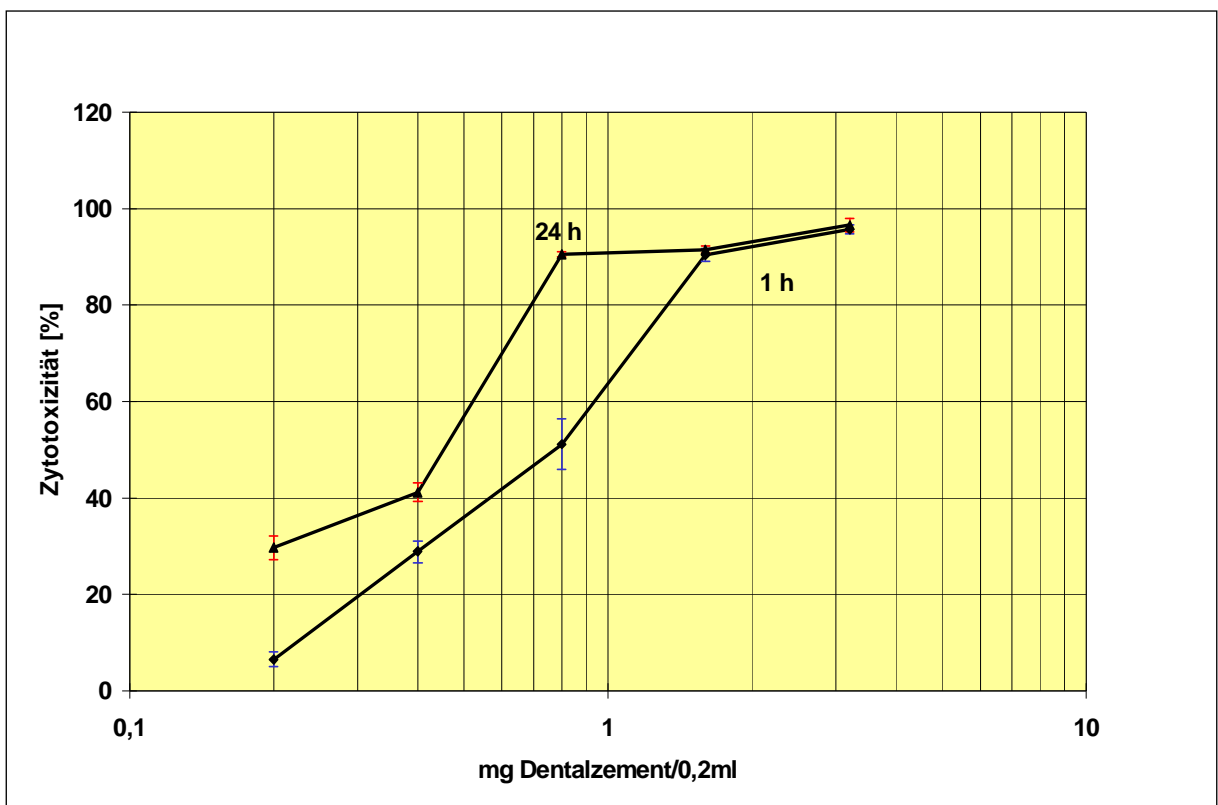


Abb.15: Zytotoxizität des Dentalzementes Ionofil Molar (ganzer Prüfkörper) gegenüber U937-Zellen nach 1- und 24-stündiger Exposition bei 37°C. XTT-Reduktionstest EZ4U (  $\bar{x} \pm SE$ ; n=3)

### 6.1.3.2. Ionofil Molar (Pulver)

Bei Ionofil Molar in Pulverform wird mit sehr geringer Einwaage schnell eine hohe Zytotoxizität erreicht, wie die Dosis-Wirkungskurve (Abb.16) deutlich zeigt (Einwaagen von 0,2 bis 3,2 mg/0,2ml). Bei einer Stunde Exposition erfolgt der Anstieg der Zytotoxizität von 6,5% bei 0,2mg/0,2ml auf 95,71% bei 3,2 mg/0,2ml. Bei 24 Stunden Exposition liegt die Zytotoxizität bei kleiner Einwaage von 0,2mg/0,2ml bei 29,66% und bei 3,2mg/0,2ml bei 96,68%. Man sieht deutlich, dass in diesem Fall im hohen Dosisbereich die längere Exposition keinen Einfluss auf eine höhere Zytotoxizität hat.



**Abb.16: Zytotoxizität des Dentalzementes Ionofil Molar (Pulver) gegenüber U937-Zellen nach 1- und 24-stündiger Exposition bei 37°C. XTT-Reduktionstest EZ4U (  $\bar{x} \pm SE$ ; n=3)**

### 6.1.3.3. Cupro Dur N (ganzer Prüfkörper)

Wie die Abbildung 17 deutlich macht, liegt bei einer Stunde Exposition die Zytotoxizität in einem niedrigeren Bereich als bei 24 Stunden Exposition. Die Anstiege der Zytotoxizität verlaufen mit steigender Dosis relativ linear, obwohl der Anstieg bei 24 Stunden Exposition geringer ist.

Bei 24 Stunden Exposition liegen die Zytotoxizitätswerte auch bei kleiner Einwaage schon fast bei 90%, was auf eine hohe zytotoxische Wirkung von Cupro Dur N schließen lässt.

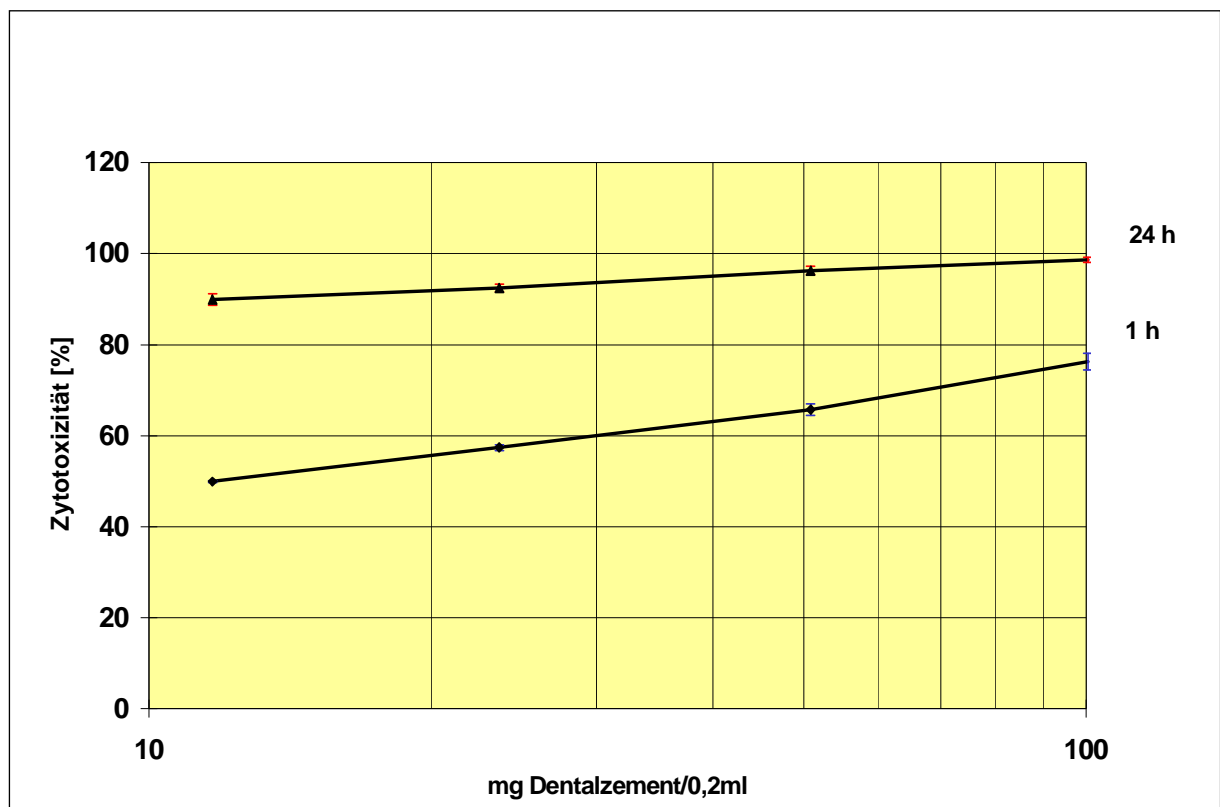
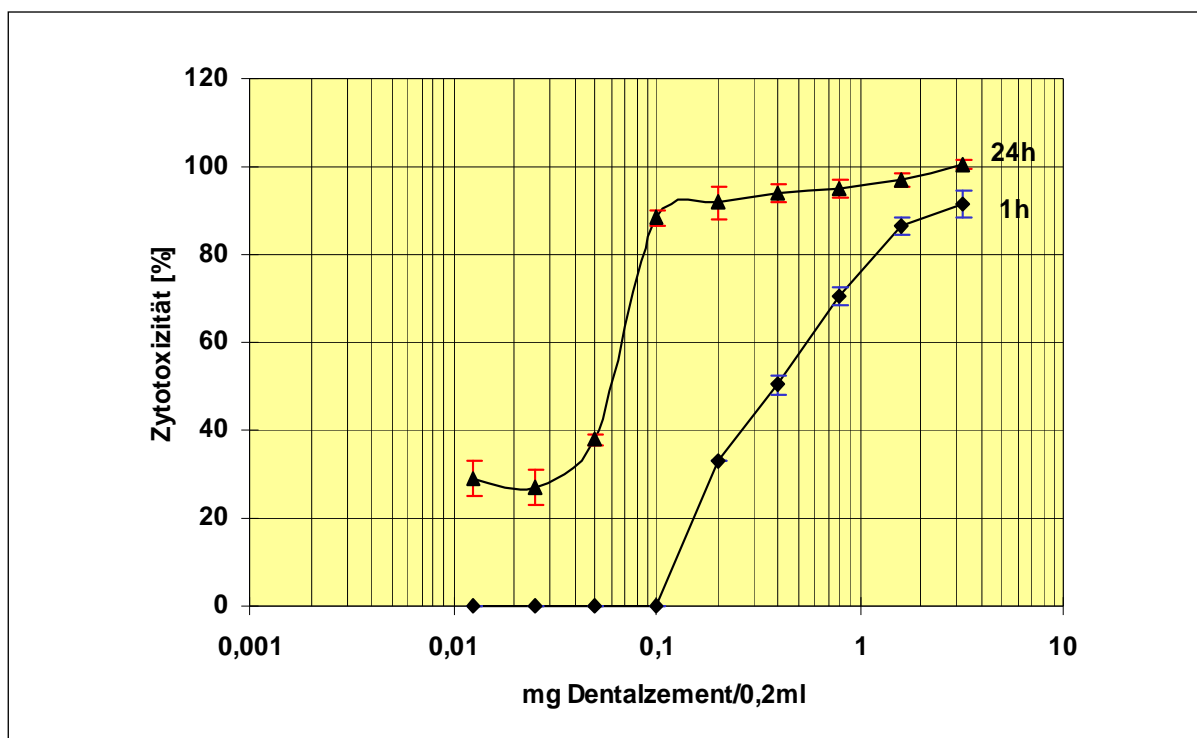


Abb.17: Zytotoxizität des Dentalzementes Cupro Dur N (ganzer Prüfkörper) gegenüber U937-Zellen nach 1- und 24-stündiger Exposition bei 37°C.  
XTT-Reduktionstest EZ4U (  $\bar{x} \pm SE$ ; n=3)

#### 6.1.3.4. Cupro Dur N (Pulver)

Wie die Abbildung 18 deutlich macht, liegt bei einer Stunde Exposition die Zytotoxizität in einem niedrigeren Bereich als bei 24 Stunden Exposition. Die Anstiege der Zytotoxizität verlaufen mit steigender Dosis relativ linear, obwohl der Anstieg bei 24 Stunden Exposition geringer ist.

Bei 24 Stunden Exposition liegen die Zytotoxizitätswerte auch bei geringeren Mengen schon fast bei 90%, was auf eine hohe zytotoxische Wirkung von Cupro Dur N schließen lässt.



**Abb.18: Zytotoxizität des Dentalzementes Cupro Dur N (Pulver) gegenüber U937-Zellen nach 1- und 24-stündiger Exposition bei 37°C. XTT-Reduktionstest EZ4U (  $\bar{x} \pm SE$ ; n=3)**

## Zytotoxische Kenngrößen und Konfidenzgrenzen

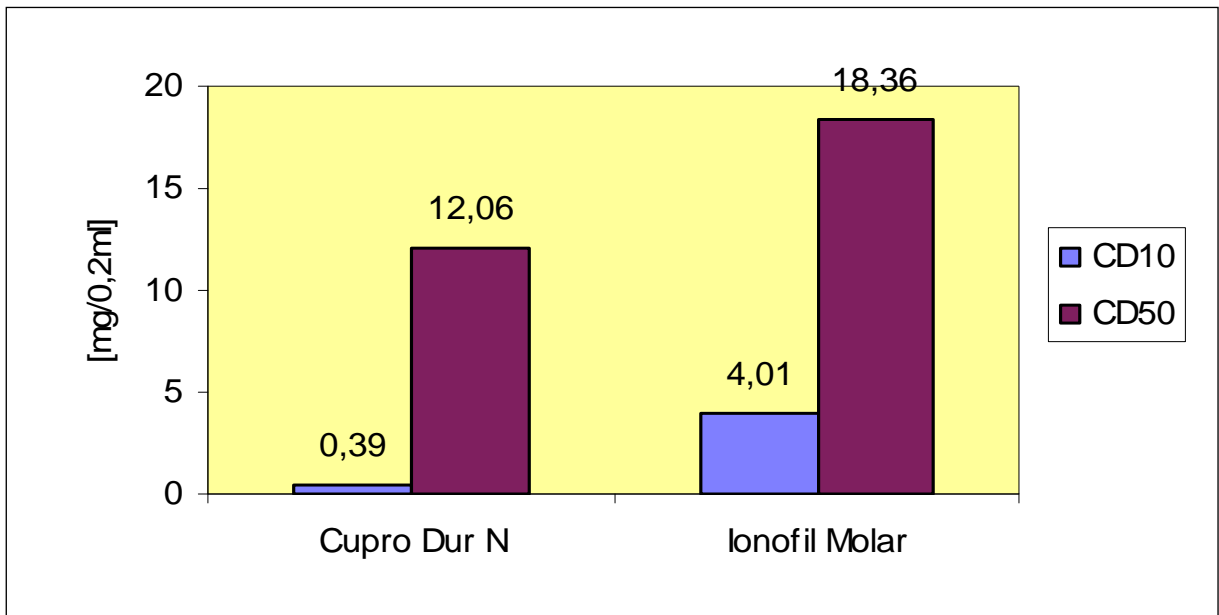
**Tabelle 4: CD-Werte der Dentalzemente bei 1h Exposition**

	Ionofil Molar (ganzer Körper)	Ionofil Molar (Pulver)	Cupro Dur N (ganzer Körper)	Cupro Dur N (Pulver)
CD <sub>10</sub> [mg/0,2ml]	4,01(3,29-4,9)	0,24(0,23-0,25)	0,39(0,19-0,8)	0,1(0,09-0,1)
CD <sub>50</sub> [mg/0,2ml]	18,36(17,67- 19,18)	0,65(0,63-0,68)	12,06(10,38- 14,01)	0,46(0,44-0,51)
CD <sub>90</sub> [mg/0,2ml]	83,93(70,1- 100,48)	1,8(1,69-1,91)	365(235,1- 566,8)	2,11(1,94-2,13)

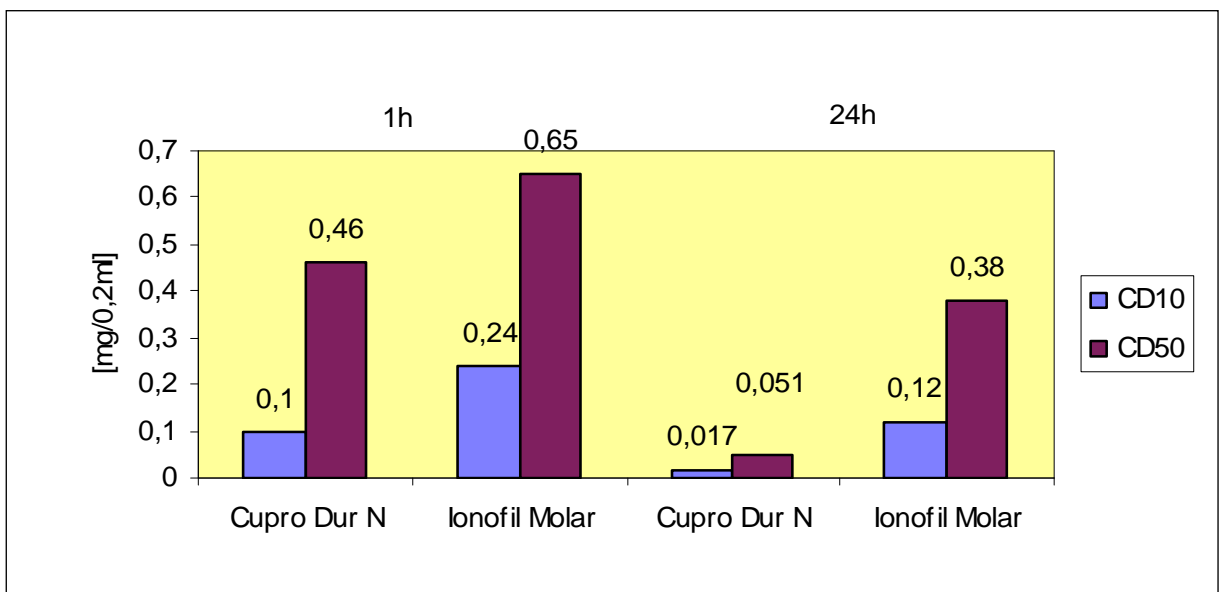
**Tabelle 5: CD-Werte der Dentalzemente bei 24h Exposition**

	Ionofil Molar (ganzer Körper)	Ionofil Molar (Pulver)	Cupro Dur N (ganzer Körper)	Cupro Dur N (Pulver)
CD <sub>10</sub> [mg/0,2ml]	< 12,78	0,12(0,11-0,13)	< 11,69	0,017(0,016- 0,017)
CD <sub>50</sub> [mg/0,2ml]	< 12,78	0,38(0,36-0,41)	< 11,69	0,051(0,049- 0,052)
CD <sub>90</sub> [mg/0,2ml]	21,98(20,08- 24,05)	1,25(1,21-1,26)	10,5(5,31-20,7)	0,16(0,15-0,18)

In den beiden vorstehenden Tabellen (Tab.4 und Tab.5) sind die errechneten CD-Werte für die Dentalzemente in fester Form und in Pulverform nach einer und 24 Stunden Exposition an U937-Zellen aufgeführt. In den nachfolgenden Grafiken (Abb.19 und Abb.20) ist dies dargestellt.



**Abb.19: Stoffmengen der Dentalzemente als feste Körper [mg/0,2ml] bei 10 und 50 % Zytotoxizität (CD<sub>10</sub> und CD<sub>50</sub>) nach einer Stunde Exposition**



**Abb.20: Stoffmengen der Dentalzemente als Pulver [mg/0,2ml] bei 10 und 50% Zytotoxizität (CD<sub>10</sub> und CD<sub>50</sub>) nach einer und 24 Stunden Exposition**

#### 6.1.4. Bioglaskeramik

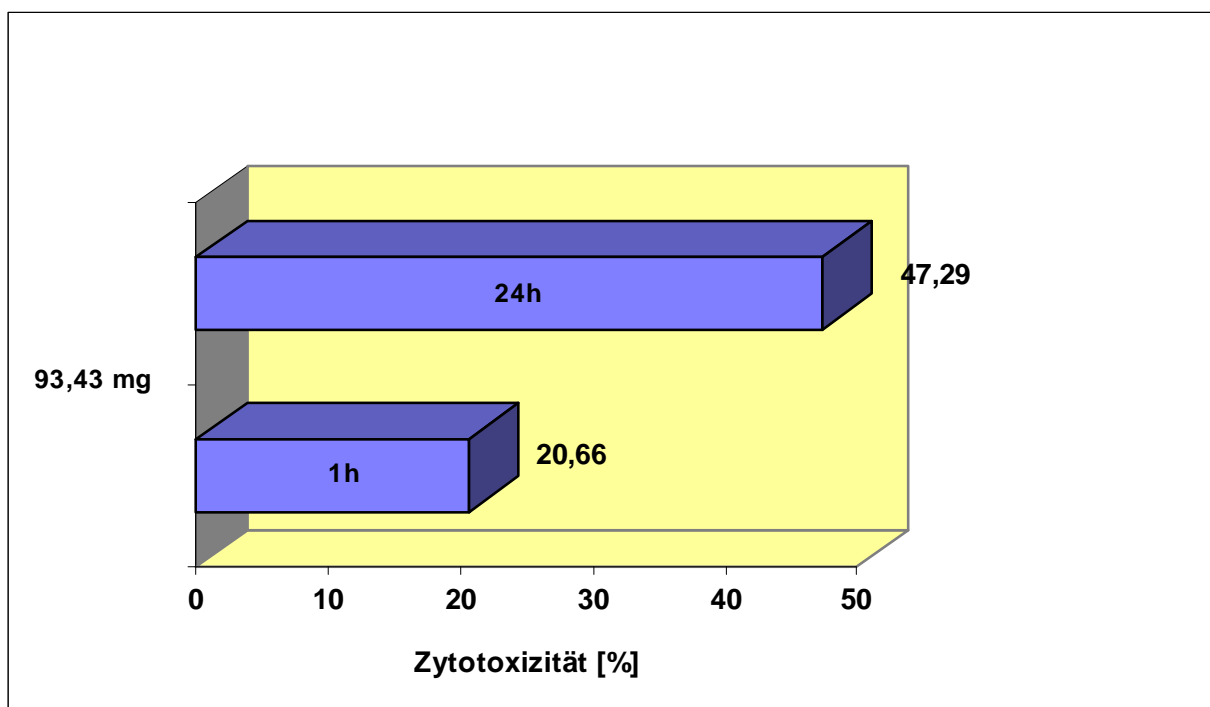
##### Zytotoxizitäten

##### 6.1.4.1. Bioverit II (ganzer Prüfkörper)

Bei Bioverit II in Würfelform wurden 18 Prüfkörper mit ähnlicher Masse verwendet und ein Durchschnittswert als Einwaage für die beiden Expositionen angenommen ( $93,43 \pm 1,07\text{mg}$ ).

Nach einer Stunde Exposition zeigte sich eine Zytotoxizität von 20,66% und nach 24 Stunden Exposition von 47,29%. Dies ist in Abbildung 21 dargestellt.

Es wird deutlich, dass Bioverit II in dieser Form die Zellen auch schädigt, allerdings in geringerem Maße als die anderen Testsubstanzen.



**Abb 21: Zytotoxizität der Biokeramik Bioverit II (ganzer Körper) gegenüber U937-Zellen nach 1- und 24-stündiger Exposition bei 37°C. XTT-Reduktionstest EZ4U (  $\bar{x} \pm \text{SE}$ ; n=3)**

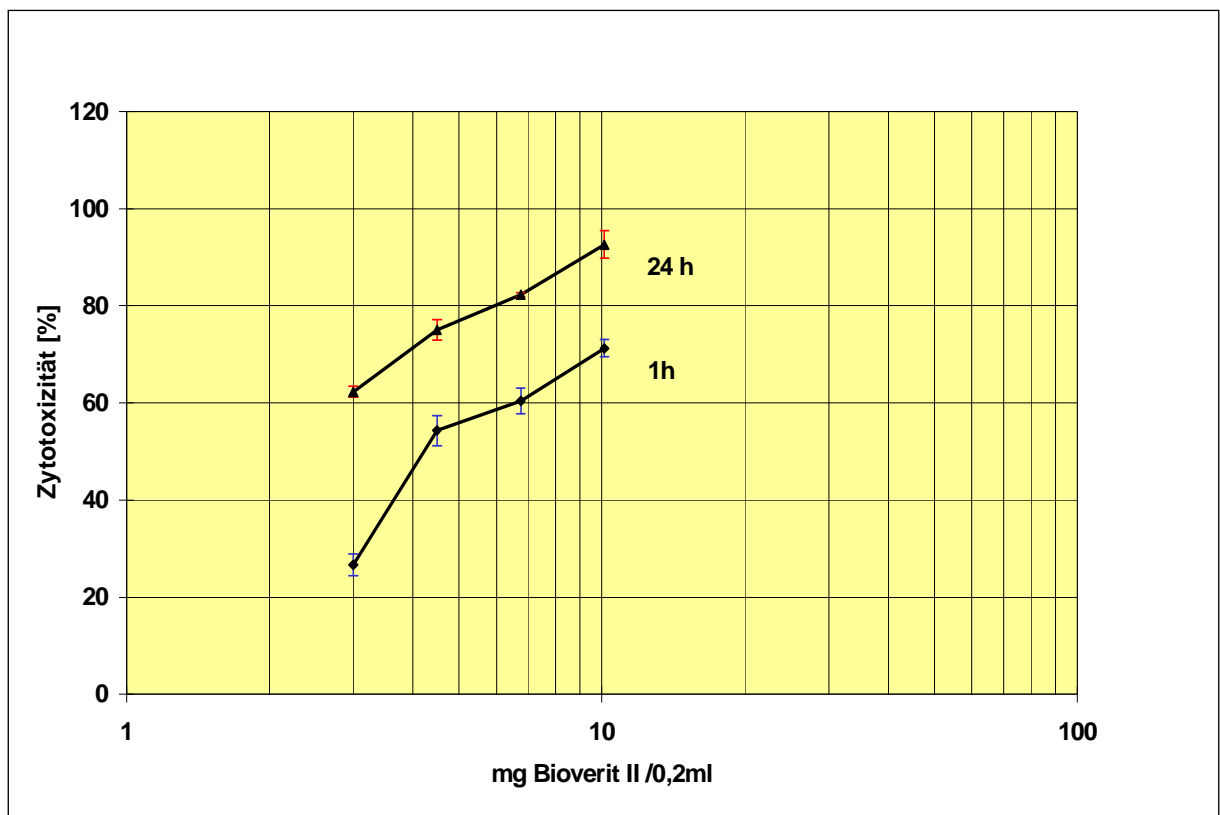


#### 6.1.4.2. Bioverit II (Pulver)

Bei Bioverit II in Pulverform steigen die Zytotoxizitätswerte sowohl nach einer Stunde als auch nach 24 Stunden Exposition mit zunehmender Stoffmenge an, wie in der Dosis-Wirkungskurve zu sehen ist (Abb 22).

Bei einer Stunde liegt für eine Dosis von 3 mg/0,2ml die Zytotoxizität bei 26,7% und für 10,125 mg/0,2ml bei 71,3%. Bei 24 Stunden Exposition liegen die Werte höher (62,34% bzw. 92,66%).

Das zeigt, dass auch für diesen Stoff ein zytotoxisches Potenzial durchaus vorhanden ist.



**Abb.22: Zytotoxizität der Biokeramik Bioverit II (Pulver) gegenüber U937-Zellen nach 1- und 24-stündiger Exposition bei 37°C. XTT-Reduktionstest EZ4U (  $\bar{x} \pm SE$ ; n=3)**

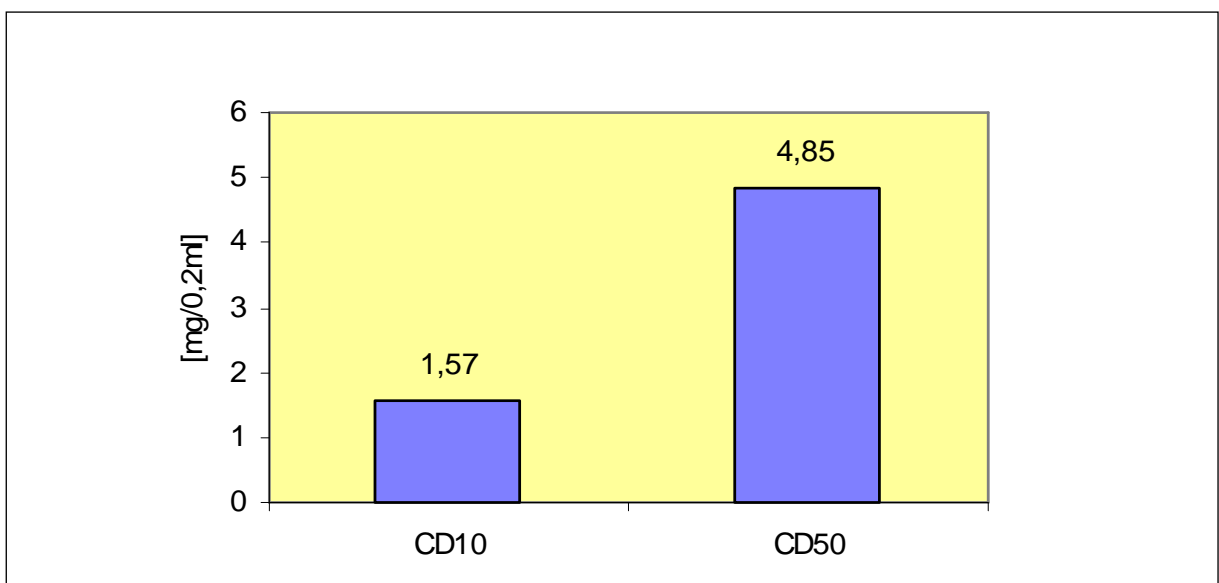
## Zytotoxische Kenngrößen und Konfidenzgrenzen

Bei der Biokeramik Bioverit II in Würfelform ließen sich aufgrund der unveränderten Masse (Konzentration) keine CD-Werte und Konfidenzgrenzen bestimmen.

**Tabelle 6: CD-Werte von Bioverit-II-Pulver bei 1h Expositionszeit**

CD <sub>10</sub>	1,57 (1,39-1,77) mg/0,2ml
CD <sub>50</sub>	4,85 (4,3-5,47) mg/0,2ml
CD <sub>90</sub>	16,1 (15,03-17,29) mg/0,2ml

In der vorstehenden Tabelle (Tab.6) sind die errechneten CD-Werte für die Bioglaskeramik Bioverit II in Pulverform bei einer Stunde Exposition aufgeführt. In der folgenden Abbildung (Abb.23) sind die CD-Werte für eine Stunde Exposition dargestellt.



**Abb.23: Stoffmenge [mg/0,2ml] bei 10 und 50% Zytotoxizität für Bioverit II bei einer Stunde Exposition**

### 6.1.5. Monomere

#### Zytotoxizitäten

##### 6.1.5.1. Triethylenglykoldimethacrylat (TEGDMA)

Nach einer Stunde Exposition zeigt sich bei TEGDMA in der Dosis-Wirkungskurve (Abb.24) ein relativ gleichmäßiger Anstieg der Zytotoxizität. Bei geringer Konzentration (0,5 mg/ml) liegt noch eine schwache Zytotoxizität vor (8,25%). Bei hoher Konzentration (8 mg/ml) beträgt die Zytotoxizität dagegen schon 74,93%. Bei 24 Stunden Exposition liegen die Zytotoxizitätswerte insgesamt höher: Bei 0,5mg/ml 51,38% und bei 8mg/ml 97,67%. Die Zytotoxizität steigt ab Konzentrationen von 2mg/ml nur noch gering an.

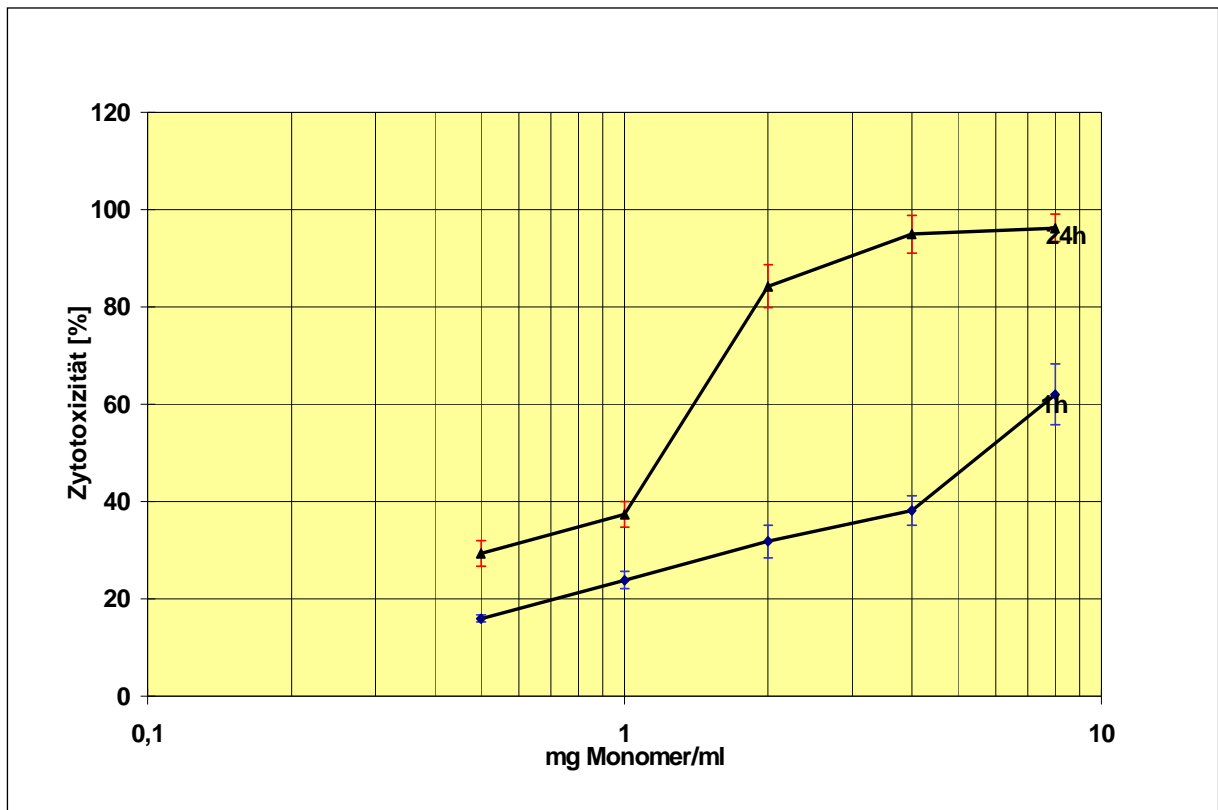


**Abb.24: Zytotoxizität des Monomeres TEGDMA gegenüber U937-Zellen nach 1- und 24-stündiger Exposition bei 37°C.**  
XTT-Reduktionstest EZ4U (  $\bar{x} \pm SE$ ; n=3)

### 6.1.5.2. 2-Hydroxyethylmethacrylat (HEMA)

Bei HEMA zeigt sich nach einer Stunde Exposition im Bereich der geringen Konzentrationen (0,5-4 mg/ml) ein flacherer Anstieg als zwischen 4 und 8 mg/ml. Die Zytotoxizität steigt von 15,96% auf 62,02% (Abb.25).

Bei 24 Stunden Exposition nimmt die Zytotoxizität von 29,39% auf 96,2% zu, wobei zwischen 1 und 2 mg/ml der größte Anstieg der Zytotoxizität zu verzeichnen ist.



**Abb.25: Zytotoxizität des Monomeres HEMA gegenüber U937-Zellen nach 1- und 24-stündiger Exposition bei 37°C.**  
XTT-Reduktionstest EZ4U (  $\bar{x} \pm SE$ ; n=3)

### 6.1.5.3. Methacrylat (MA)

Bei dem Monomer MA ist bei 24 Stunden Exposition der Anstieg der Zytotoxizität viel höher als bei einer Stunde Exposition. Bei beiden Expositionen sind die Zytotoxizitätswerte bei einer Konzentration von 8 mg/ml relativ hoch (77,66 und 103,27 mg/ml), wobei nach 24 Stunden die Zytotoxizität verstärkt ist (Abb.26).

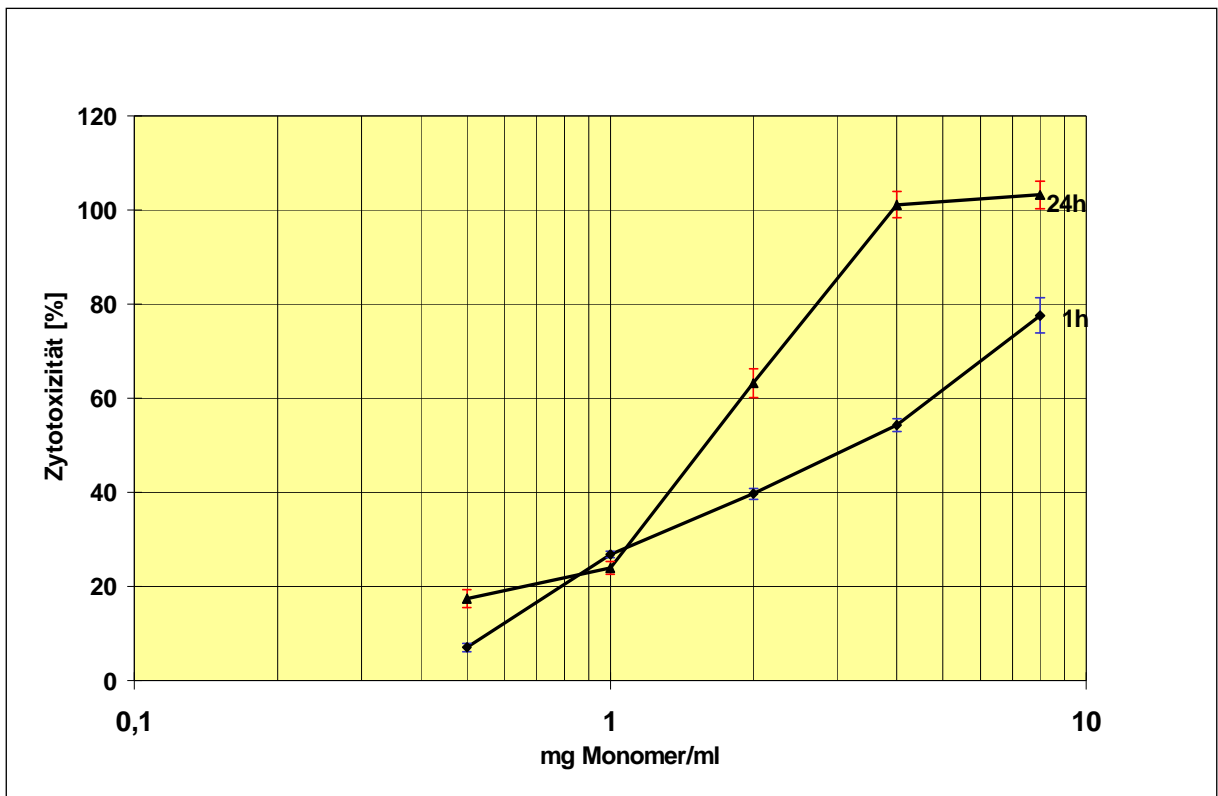


Abb.26: Zytotoxizität des Monomeres MA gegenüber U937-Zellen nach 1- und 24-stündiger Exposition bei 37°C.  
XTT-Reduktionstest EZ4U (  $\bar{x} \pm \text{SE}$ ; n=3)

## Zytotoxische Kenngrößen und Konfidenzgrenzen

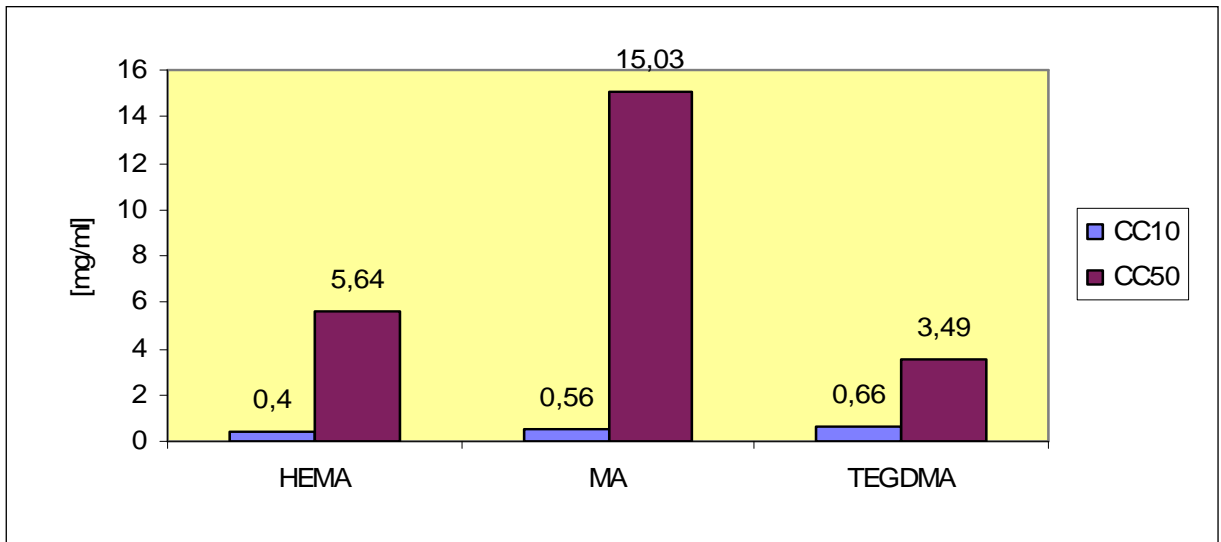
**Tabelle 7: CC-Werte der Monomere bei 1h Exposition**

CC <sub>10</sub> -HEMA	0,4 (0,32-0,5) mg/ml
CC <sub>10</sub> -MA	0,56 (0,53-0,59) mg/ml
CC <sub>10</sub> -TEGDMA	0,66 (0,58-0,76) mg/ml
CC <sub>50</sub> MA	2,89 (2,69-3,1) mg/ml
CC <sub>50</sub> -TEGDMA	3,49 (3,16-3,86) mg/ml
CC <sub>50</sub> -HEMA	5,64 (4,48-7,1) mg/ml
CC <sub>90</sub> -MA	15,03 (12,93-17,46) mg/ml
CC <sub>90</sub> -TEGDMA	18,36 (15,03-22,42) mg/ml
CC <sub>90</sub> -HEMA	80,64 (42,52-152,93) mg/ml

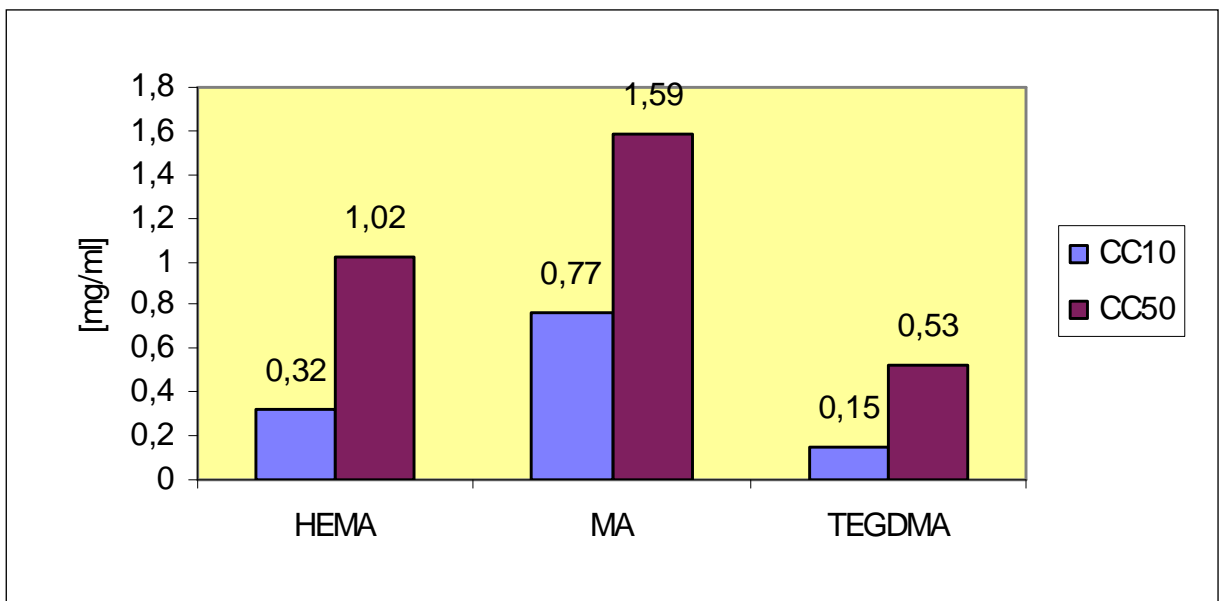
**Tabelle 8: CC-Werte der Monomere bei 24h Exposition**

CC <sub>10</sub> -TEGDMA	0,15 (0,12-0,18) mg/ml
CC <sub>10</sub> -HEMA	0,32 (0,29-0,37) mg/ml
CC <sub>10</sub> -MA	0,77 (0,75-0,81) mg/ml
CC <sub>50</sub> -TEGDMA	0,53 (0,46-0,62) mg/ml
CC <sub>50</sub> -HEMA	1,02 (0,88-1,16) mg/ml
CC <sub>50</sub> -MA	1,59 (1,49-1,68) mg/ml
CC <sub>90</sub> -TEGDMA	1,9 (1,7-2,1) mg/ml
CC <sub>90</sub> -HEMA	3,18 (2,71-3,75) mg/ml
CC <sub>90</sub> -MA	3,26 (2,99-3,54) mg/ml

In den beiden vorstehenden Tabellen (Tab.7 und Tab.8) sind die errechneten CC-Werte für die Monomere nach einer und 24 Stunden Exposition an U937-Zellen aufgeführt. Auf der nächsten Seite sind die berechneten CC-Werte grafisch dargestellt (Abb.27 und Abb.28).



**Abb.27: Konzentration [mg/ml] bei 10 und 50% Zytotoxizität der Monomere nach einer Stunde Exposition**



**Abb.28: Konzentration [mg/ml] bei 10 und 50% Zytotoxizität der Monomere nach 24 Stunden Exposition**

## 6.1.6. Quecksilberverbindungen

### Zytotoxizitäten

#### 6.1.6.1. Quecksilber(II)-chlorid

Die Konzentrationen bei diesem Versuch lagen im Mikrogrammbereich, wie auch in der Dosis-Wirkungskurve (Abb.29) angegeben ist.

Nach einer Stunde Exposition zeigte sich mit steigender Konzentration ein relativ gleichmäßiger Anstieg der Zytotoxizitäten von 7,16% bei 0,47 µg/ml bis auf 56,82% bei 7,5 µg/ml.

Nach 24 Stunden Exposition erfolgte sofort ein Anstieg zwischen 0,47 µg/ml und 1,87 µg/ml auf 87,66%. Die weiteren höheren Konzentrationen erreichen eine Zytotoxizität von fast 100%.

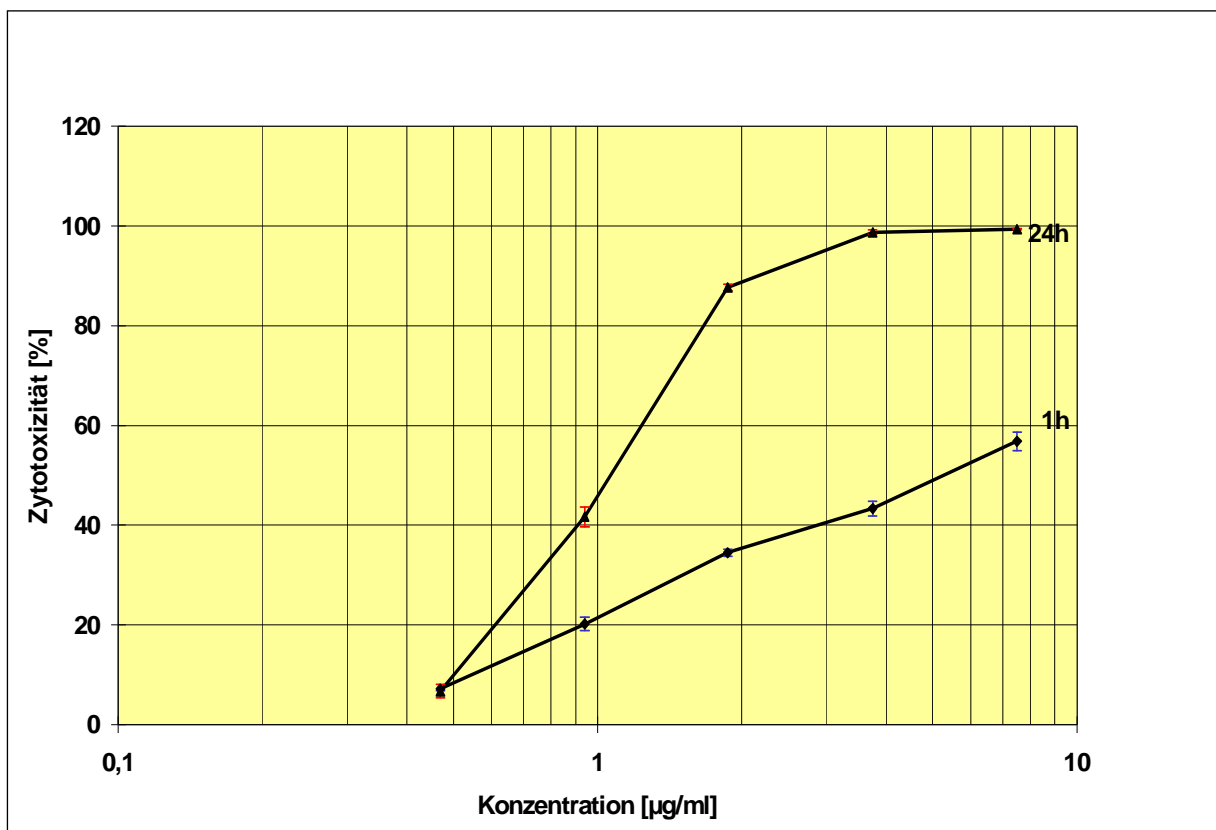
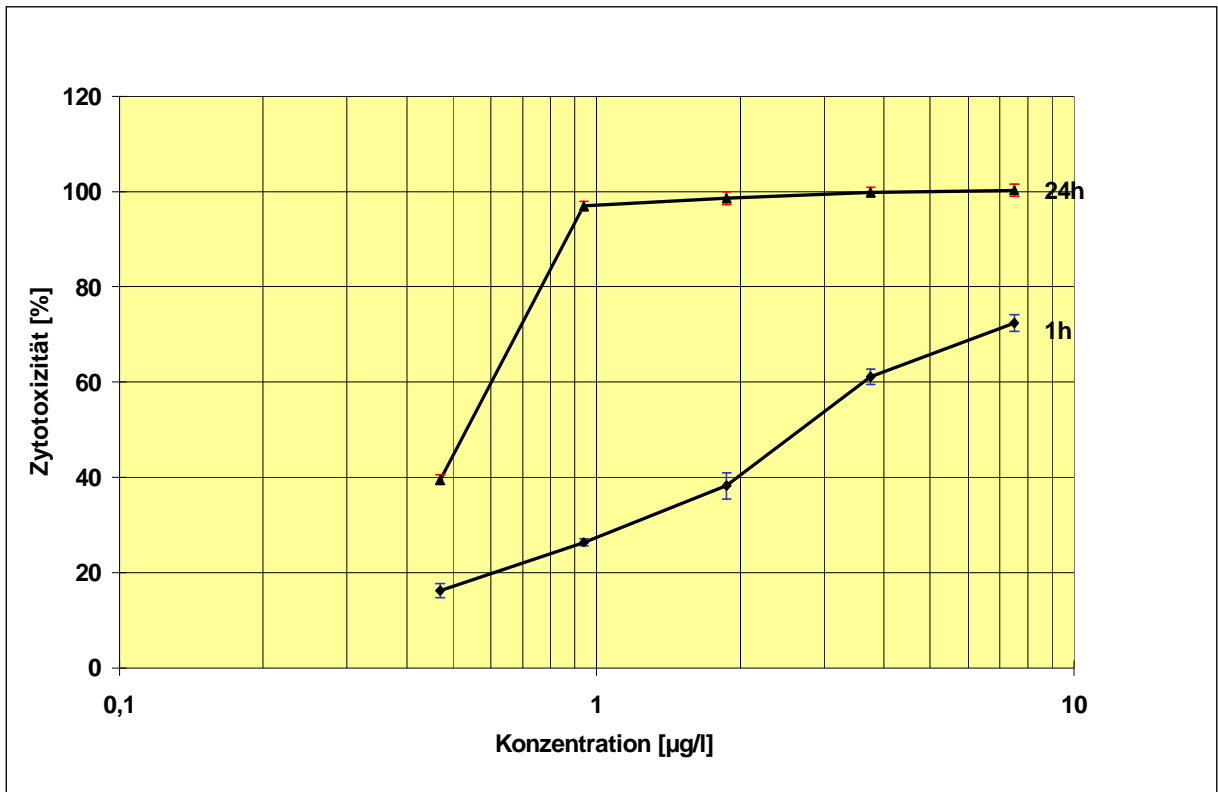


Abb.29: Zytotoxizität von Quecksilber(II)-chlorid gegenüber U937-Zellen nach 1- und 24-stündiger Exposition bei 37°C.  
XTT-Reduktionstest EZ4U (  $\bar{x} \pm SE$ ; n=3)



### 6.1.6.2. Methylquecksilberchlorid

Auch bei diesem Stoff werden bei sehr geringen Konzentrationen relativ hohe Zytotoxizitäten erreicht (Abb.30). Nach einer Stunde Exposition steigen die Zytotoxizitäten gleichmäßig von 16,24% auf 72,41% an (0,47 µg/ml bis 7,5 µg/ml). Nach 24 Stunden Exposition beträgt bei einer Konzentration von 0,47 µg/ml die Zytotoxizität bereits 39,55%. Sie steigt bis auf 100,3% bei 7,5 µg/ml.



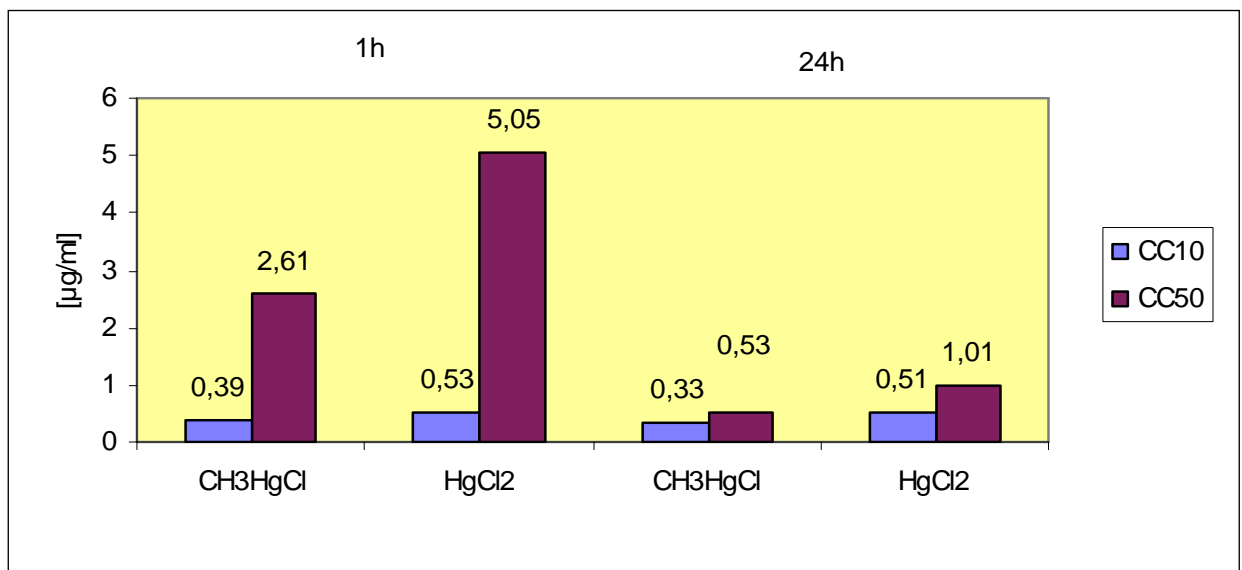
**Abb.30: Zytotoxizität von Methylquecksilberchlorid gegenüber U937-Zellen nach 1- und 24-stündiger Exposition bei 37°C.**  
XTT-Reduktionstest EZ4U (  $\bar{x} \pm SE$ ; n=3)

## Zytotoxische Kenngrößen und Konfidenzgrenzen

**Tabelle 9: CC-Werte der Quecksilberverbindungen bei 1h und 24h Exposition**

	Exposition 1h	Exposition 24h
CC <sub>10</sub> -HgCl <sub>2</sub>	0,53(0,5-0,56) µg/ml	0,51(0,49-0,54) µg/ml
CC <sub>50</sub> -HgCl <sub>2</sub>	5,05(4,76-5,36) µg/ml	1,01(0,99-1,03) µg/ml
CC <sub>90</sub> -HgCl <sub>2</sub>	48,91(41,26-57,97) µg/ml	2,01(1,96-2,03) µg/ml
CC <sub>10</sub> -CH <sub>3</sub> HgCl	0,39(0,37-0,41) µg/ml	0,33(0,32-0,34) µg/ml
CC <sub>50</sub> -CH <sub>3</sub> HgCl	2,61(2,41-2,83) µg/ml	0,53(0,52-0,54) µg/ml
CC <sub>90</sub> -CH <sub>3</sub> HgCl	17,29(15,18-19,69) µg/ml	0,86(0,84-0,88) µg/ml

In der vorstehenden Tabelle sind die errechneten CC-Werte für die Quecksilberverbindungen nach einer und 24 Stunden Exposition an U937-Zellen aufgeführt. Die grafische Darstellung erfolgte in der nächsten Abbildung (Abb.31).



**Abb.31: Konzentrationen [µg/ml] bei 10 und 50 % Zytotoxizität der Quecksilberverbindungen nach einer und 24 Stunden Exposition**

## 6.2. Morphologische Beobachtungen

Bei jedem Versuch wurden nach Beendigung der Expositionsdauer von 1 bzw. 24 Stunden die Mikrotiterplatten bei 100facher Vergrößerung unter dem Lichtmikroskop betrachtet. In Tabelle 10 sind die dabei gemachten Beobachtungen aufgeführt.

**Tabelle 10: Morphologische Veränderungen der U937-Zellen unter dem Einfluss der Testsubstanzen bei 100facher Vergrößerung**

PK= Prüfkörper

Substanz	Exposition 1h	Exposition 24h
Glacier	0,5 und 1 PK: geringe Veränderungen, 2-4 PK: teilweise lysierte oder geschrumpfte Zellen	0,5 PK: z.T. tote Zellen, z.T. leichte Lyse, 1-4 PK: zunehmende Lyse, starke Schrumpfung bei fast allen Zellen bei 4 PK
Spectrum	geringe Zellveränderungen bis 2 PK, bei 3 und 4 PK beginnende Lyse	ab 1,5 PK deutliche Schrumpfung, daneben noch runde Zellen in allen Kavitäten erkennbar
Wave	geringe Zellveränderungen bei 1-3 PK; bei 4 PK: deutliche Zunahme der lysierten Zellen	runde und lysierte Zellen in allen Kavitäten mit ansteigender Tendenz der lysierten Zellen von 1-4 PK
F2000	0,5-3 PK: kaum Veränderungen, 4 PK: deutliche Zunahme des Anteils lysierter Zellen	0,5 und 1 PK: leichte Lyse, 2-4 PK: Schrumpfung und deutliche Lyse
Dyract	überall deutliche Schrumpfung der Zellen erkennbar, besonders bei 4 PK starke Deformation	starke Zellveränderungen, kaum Abstufung, deutliche Schrumpfung der Zellen in allen Kavitäten
Freedom	in allen Kavitäten viele unversehrte Zellen, Lyse bei 3-4 PK deutlich	zunehmende Lyse ab 2 PK
Ionofil Molar PK	0,5 und 1 PK: unverändert, 4 PK: Zellen zerstört	geschrumpfte und lysierte Zellen in allen Kavitäten,

Ionofil Molar Pulver	starke Zellzerstörung ab 2 PK	alle Zellen lysiert
Cupro Dur N PK	Abstufung der Schädigung von 0,5-4 PK gut erkennbar, zunehmende Schrumpfung	überwiegend tote Zellen, nur bei 0,5 und 1 PK auch einige vitale Zellen
Cupro Dur N Pulver	starke Zellzerstörung bereits ab 2 PK	alle Zellen lysiert
Bioverit II PK	viele runde Zellen, kaum Veränderungen durch Lyse oder Schrumpfung	Zellen vital, wenig lysierte Zellen
Bioverit II Pulver	leichte Schrumpfung bei 4-10 mg/ml	zunehmende Zellzerstörung bei 4-10 mg/ml
TEGDMA	erkennbare Lyse, die mit ansteigender Konzentration zunimmt, bei 4 und 8 mg/ml keine vitalen Zellen	starke Zellveränderungen in allen Konzentrationen
HEMA	deutliche Abstufung, zunehmende Lyse mit steigender Konzentration, bei 0,5 und 1 mg/ml noch viele runde Zellen enthalten	keine Abstufung, Schrumpfung und Lyse in allen Konzentrationen
MA	0,5-2 mg/ml: viele vitale Zellen, 4 und 8 mg/ml: Lyse und Schrumpfung deutlich erkennbar	einige runde Zellen bei 0,5 und 1 mg/ml sonst Zellen avital
Quecksilber(II)-chlorid	Randveränderungen und Schrumpfung der Zellen in fast allen Kavitäten, bei 0,94 µg/ml einige vitale Zellen erkennbar	Zellen lysiert
Methylquecksilberchlorid	Konzentrationen von 1,87-7,5 µg/ml: nur wenige unversehrte Zellen, 0,47-0,94 µg/ml: einige runde Zellen zu erkennen	Zellen in allen Kavitäten lysiert

Wie Guertzen 1988 berichtete, hat auch er deutliche morphologische Veränderungen an Epithelzellen und Fibroblasten der menschlichen Gingiva nach der Einwirkung verschiedener Monomere als Kompositbestandteile feststellen können. Er beobachtete, dass UDMA (Urethandimethacrylat), MA und BisGMA mit steigender Konzentration zu immer deutlicherer Hemmung des Zellwachstums bzw. zu Zellveränderungen bis hin zum Absterben der Zellen führen. Bereits nach 20 Sekunden traten irreversible Schäden wie Photozytose (bei UDMA) ein; außerdem wurden Abkugelungen, Schrumpfung und ein Abschwemmen der Zellen vom Untergrund (Petrischale) beobachtet.

## 7. Diskussion

Aufgrund der immer rasanter verlaufenden Entwicklung in den Naturwissenschaften und insbesondere auch in der Medizin kommen ständig neue Biomaterialien, Medikamente und Therapieverfahren auf den Markt. Hierfür besteht durch die zunehmende Lebenserwartung der Menschen aber auch die steigenden Ansprüche der Patienten an die Behandlung durch die Mediziner ein entsprechender Bedarf. Die eingesetzten Medizinprodukte, Arzneimittel und Biomaterialien müssen den neusten Standards entsprechen und in ihrer Wirksamkeit und Verträglichkeit ausreichend getestet sein. Leider werden diese wichtigen Kriterien oftmals nicht zur Genüge erfüllt. Gerade die Biokompatibilität wird oftmals nur nebensächlich bei der Einführung neuer Materialien berücksichtigt (Höcker und Klee, 1996).

Grundsätzlich werden immer Reaktionen auf das körpereigene Gewebe durch den damit in Berührung gebrachten, nicht körpereigenen Werkstoff oder das Implantat erfolgen. Die Frage ist nur, ob dadurch die physiologische Toleranzbreite der Zellreaktion überschritten wird und Schäden hervorgerufen werden. Das Ausmaß des Schadens hängt hierbei sowohl von der Funktion und Bedeutung der betroffenen Zellbestandteile als auch von der Reparaturmöglichkeit durch die Zelle ab. So ist beispielsweise die Reaktion des Zahngewebes auf toxische Einflüsse interessant. Je nach Stärke der Schädigung kommt es zu reversibler bzw. irreversibler Pulpitis, gefolgt von Pulpagangrän (Nekrose) und schließlicher Hartgewebsbildung (Reizdentin) bis hin zur vollständigen Obliteration des Pulpenkavums und Wurzelkanals (Gängler, 1991). Ebenso sind Reaktionen der Gingiva, so unter anderem Ulcerationen oder Kontaktallergien, nach Kontamination mit Dentin-haftvermittlern beschrieben worden (Redlich et al., 1996).

Für die Testung von Biomaterialien, einschließlich der Testung der Biokompatibilität bestehen strenge Richtlinien und Vorgaben, die in verschiedenen Gesetzen und Verordnungen geregelt sind. So ist besonders das Medizinproduktegesetz (MPG) vom 2. August 1994 (Müller und Jaske, 1996) bzw. seine Änderung vom 13. Dezember 2001, das den Verkehr mit Medizinprodukten regelt, wichtig. Es basiert auf der EG-Richtlinie des Rates 93/42/EWG über Medizinprodukte. Das MPG verfolgt das Ziel, eine hohe Produktsicherheit zu gewährleisten. Es fordert, dass das Produkt medizinisch und technisch unbedenklich ist, der medizinische Zweck durch den Hersteller zu belegen ist und das Medizinprodukt die erforderliche Qualität aufweist

(Pilz, 1997). Nach seiner Inkraftsetzung am 1. 1. 1995 wurden die bis dahin den Arzneimitteln zugeordneten dentalen Füllungswerkstoffe als Medizinprodukte eingestuft. Eine Übergangsregelung ist am 13. 6. 1998, bzw. nach der 2. Änderung des Gesetzes vom 13. 12. 2001 am 7. 1. 2003 abgelaufen. Von diesem Zeitpunkt an dürfen innerhalb der europäischen Gemeinschaft nur noch Medizinprodukte in Verkehr gebracht und erstmals angewendet werden, die das CE-Zeichen tragen und so ausschließlich dem europäischen und deutschen Medizinprodukterecht unterliegen (Harhammer, 2001). Das CE-Zeichen gibt an, dass das Produkt die „Grundlegenden Anforderungen“ erfüllt, und ein „Konformitätsbewertungsverfahren“ durchgeführt worden ist (§ 6 des MPG). Damit soll erreicht werden, dass Medizinprodukte für Patienten, Anwender und Dritte sicher sind und die vom Hersteller angegebenen Leistungen erreichen.

Seit dem 1. 1. 1995 unterliegen Dentalwerkstoffe innerhalb der EU der Medizinprodukte-Direktive 93/42. Sie müssen danach biologischen Prüfungen unterzogen werden (Risikoabschätzung). Die Verantwortung für die Sicherheit eines Medizinproduktes liegt nach dieser Direktive beim Hersteller. Die Medizinproduktedirektive verweist in Artikel 5 auf Normen (harmonisierte europäische Normen), die zur Erfüllung der „Grundlegenden Anforderungen“ herangezogen werden können. Harmonisierte Normen basieren auf Normen, die von der europäischen Normungsorganisation (CEN) erstellt (EN-Normen) und anschließend von der EU in ihrem offiziellen Mitteilungsorgan publiziert werden. Um die Normungsarbeit zu erleichtern, wurde sie im sog. Wiener Abkommen zwischen CEN und der weltweit aktiven Normungsorganisation ISO (International Standards Organisation) koordiniert (Schmalz, 1995).

Das MPG gilt für die Mehrheit der zahnärztlichen Arbeitsmittel und Werkstoffe. Die Produkte sind entsprechend ihrem Gefährdungspotenzial verschiedenen Klassen zugeordnet. Dentalprodukte der Klasse I (z.B. Instrumente und Abformmaterialien) kann der Hersteller selbst zulassen, während für die Klasse II (z.B. Füllungs- und Befestigungsmaterialien) ein zertifiziertes Qualitätssicherungssystem notwendig ist. Allerdings ist im aktuellen MPG auch geregelt, dass die Hersteller nicht verpflichtet sind, die genaue Zusammensetzung ihrer Produkte im Beipackzettel oder im Dentalvademekum anzugeben. So sind beispielsweise unter den Dentinhaltvermittlern nur zwei Präparate vollständig in den Packungsbeilagen wie Arzneimittel deklariert. Vor In-Kraft-Treten des MPG vom 1. 1. 1995 zählten sowohl die

Füllungsmaterialien wie auch die Haftvermittler zu den Arzneimitteln und eine genaue Angabe der Zusammensetzung war Vorschrift (Müller und Jaske, 1996). Die Hersteller sind jetzt jedoch verpflichtet, dem Produkt die erforderlichen Informationen beizugeben, dass eine sichere und einfache Handhabung zu gewährleisten ist. Der Anwender muss selbst entscheiden, ob dies mit den angegebenen Informationen möglich ist und kann gegebenenfalls weitere Angaben vom Hersteller anfordern (Koch, 1997).

Das MPG regelt auch die Meldung von Nebenwirkungen und Risiken von Medizinprodukten. So sieht der § 29 des MPG vor, dass die bei der Anwendung oder Verwendung von Medizinprodukten auftretenden Gefahren zentral beim Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) zu erfassen, auszuwerten und zu bewerten sind. Der Hersteller von Medizinprodukten ist zur Meldung von Vorkommnissen an das BfArM verpflichtet.

Demgegenüber ist der Zahnarzt nicht Hersteller und somit nicht zur Meldung verpflichtet. Jedoch hat die Zahnärzteschaft in Abstimmung mit dem BfArM ein freiwilliges Meldesystem eingerichtet. Die Meldungen sind dazu auf einem entsprechendem Formblatt für die Meldungen von Vorkommnissen bei der Anwendung von Medizinprodukten (Materialien) abzugeben, welches jedem Zahnarzt vorliegt (Bundeszahnärztekammer und Kassenzahnärztliche Bundesvereinigung, 2000).

Eine solche genaue Regelung zum Einsatz von Medizinprodukten einschließlich zahnärztlicher Produkte ist aufgrund der potenziell immer in Betracht kommenden Schädigung für Patient und medizinisches Personal unerlässlich. Daher ist eine präklinische Prüfung derartiger Werkstoffe, wie sie auch die Medizinprodukteverordnung 93/42 vorschreibt, unbedingt erforderlich (Schmalz et al., 1994).

Biologische Prüfungen für Medizinprodukte im allgemeinen sind in der Standard-Serie ISO 10993/EN-30993 zusammengefasst. Neben dieser Serie können noch andere Normen Anwendung finden, so z.B. EN 1441 (Medical Devices-Risk Analysis; European Committee for Standardization, 1994) und EN 540 (Clinical Testing; European Committee for Standardization, 1996).

Weit verbreitet und besonders gut geeignet für die biologische Prüfung und für den Nachweis spezieller toxikologischer Wirkungen von Medizinprodukten sind Zell- und



Gewebekulturtests (Jacker, 1990; Hanks et al., 1996), die in großer Zahl und unterschiedlichster Wirkungsweise in vitro durchgeführt werden können.

Die zu testenden Substanzen werden in einem Stufensystem untersucht, wobei gewöhnlich am Beginn der Untersuchungen Zellkulturtests stehen (Schmalz, 1994; Lewandowska-Szumiel, 1999). Gerade in der Zahnheilkunde hat die biologische Prüfung von Werkstoffen mittels Zellkulturen eine lange Tradition.

Standardverfahren nach ISO 7405 sind der Agar-Overlay-Test sowie der Filtertest (Schmalz, 1988). Andere Methoden wie morphologische Tests ergänzen die Möglichkeiten, müssen aber auch den Normrichtlinien nach ISO 10993 entsprechen. Zytotoxizitätstests zur Biokompatibilitätsprüfung richten sich nach ISO 10993-5 (Henning, 1998). Eine Vielzahl zahnärztlicher, aber auch anderer medizinischer Produkte und Werkstoffe, wurden so getestet. So zeigte sich, dass z.B. das Amalgam vor dem Abbinden zytotoxisch ist, danach aber nur noch minimale Zellschäden verursacht, wogegen Kompositfüllungsmaterialien vor dem Abbinden sehr zytotoxisch wirken, diese Wirkung im ausgehärteten Zustand zwar nachlässt, aber noch deutlich nachzuweisen ist (Schedele et al., 1994). Ähnliche Ergebnisse wurden auch mit dem XTT-Test EZ4U in der vorliegenden Arbeit erhalten, wobei sich zeigte, dass neben den Glasionomern auch die Komposite und die Komonomere starke Zytotoxizitäten aufwiesen (siehe 6.1.).

Einige Beispiele für Zellkulturtests, die bei der Prüfung von Dentalwerkstoffen regelmäßig zur Anwendung kommen, sind der Dentinbarrieretest, der Epithelbarrieretest oder auch der In-vitro-Mutagenitätstest (Browne und Tyas, 1979).

Beim Dentinbarrieretest zeigt sich ein deutlicher Einfluss der Dentinschicht auf das Ausmaß der Schädigung der Zellen. Während beim direkten Zellkontakt der Prüfschicht wie auch beim XTT-Test (Bean et al., 1995) starke zytotoxische Wirkungen nachweisbar sind, stellt das Dentin einen sicheren Schutz vor schädigenden Reagenzien dar, der nur bei sehr geringen Schichtdicken des Dentins abnimmt (Hanks et al., 1989; Hume, 1998)

Der Epithelbarrieretest ist geeignet, um wichtige Rückschlüsse auf die Schleimhautverträglichkeit eines zahnärztlichen Werkstoffes zu ziehen (Pirovano et al., 1993; Balls et al., 1995).

Beim Mutagenitätstest zeigte sich, dass neben Wurzelfüllungsmaterialien auf Epoxy-Basis auch manche Dentinkleber auf Säugetierzellen mutagen wirken. Dafür sind Substanzen aus den Dentinklebern verantwortlich, wie Glutaraldehyd und

Boran-Derivate, aber auch das in dieser Arbeit getestete TEGDMA (Schweikl et al., 1995; Schweikl et al., 1996; Schweikl und Schmalz, 1996a).

Der in dieser Arbeit angewendete XTT-Tetrazolium-Reduktionstest EZ4U beruht auf dem gleichen Prinzip wie der seit 1983 bekannte MTT-Reduktionstest. Er wurde erstmals von Mosman beschrieben, der damit Zellproliferation und Zytotoxizität am Beispiel von Säugetierzellen untersuchte (Mosman, 1983). Der auf Tetrazoliumverbindungen basierende Test gibt die Möglichkeit, die resultierende Zellüberlebensrate nach einem Einfluss einer zu testenden Verbindung schnell, zuverlässig und direkt mit Hilfe einer Zellkultur festzustellen. Er findet Anwendung in der Immunologie, in der Krebsforschung, zur Testung von antiviralen Substanzen sowie für Biokompatibilitätsuntersuchungen (Ferrari et al., 1990; Uludag und Sefton, 1990; Cory et al., 1991; Ciapetti et al., 1993; Klöcking et al., 1995).

Als Zellkulturen kommen mehrere Zellarten in Betracht: Blutmonozyten, U937-Zellen, HaCaT Zellen, L929 Mausfibroblasten, Gingivafibroblasten, menschliche Epithel-2-Zellen (abgeleitet vom menschlichen Larynxkarzinom), Verozellen, Nierenfibroblasten vom Hamster, menschliche Leberepithelzellen, Makrophagen und Leukozyten, um nur einige zu nennen (Browne, 1986; Puza et al., 1990; Ratana-sathien et al., 1995; Schweikl und Schmalz, 1996b; Schmalz et al., 1997; Giersch, 1999). Im Fall der vorliegenden Arbeit wurden U937-Zellen verwendet.

Diese Zelllinie eignet sich sehr gut für die Untersuchungen mit dem XTT-Test EZ4U, da zum einen ein deutlicher Farbumschlag und zum anderen die morphologischen Veränderungen je nach Zellschädigung erkennbar werden.

U937-Zellen sind leicht kultivierbar, wirtschaftlich und relativ unempfindlich gegenüber äußeren Einflüssen wie z.B. Zentrifugation. Sie adhärieren nicht an Kunststoffoberflächen (Di Corleto und de la Motte, 1985). Aus früheren Studien weiß man, dass Veränderungen an den Zellen nach Stimulation, z.B. im Zytoplasma ausgebildete Vesikel oder aber geschwollene Mitochondrien gut nachweisbar sind (Lambrecht, 1990; Madden et al., 1992; Oberg und Nilsson, 1992).

U937-Zellen werden auch für den Nachweis membrantoxischer Substanzen mit dem [ $^3\text{H}$ ]AA-Freisetzungstest verwendet (Klöcking et al., 1995; Hoffmann, 1997).

Mit dem MTT-Test untersuchte Yoshii 1997 Monomere, Dimethacrylate und Alkylester auf Zytotoxizität. Er verwendet dabei Lösungen von den interessierenden Stoffen und testete sie an HeLa S3 Zellen. Untersucht wurden neben der Zellviabilität

auch die Korrelation zwischen der Wasserlöslichkeit der Substanzen und der relativen Zytotoxizität.

Eine andere Möglichkeit der Testung, insbesondere von Dentalwerkstoffen, mit dem XTT-Test besteht darin, dass die zu untersuchenden Stoffe direkt mit der Zellkultur in Kontakt gebracht und die Zellveränderungen gemessen werden. Dazu wird die Testsubstanz nach Herstellerangaben angemischt und dann pulverisiert und in die einzelnen Kavitäten der Mikrotiterplatten gegeben (Yourtee et al., 1994). Getestet wurden auf diese Weise Bestandteile von Dentaladhäsiven, wie Initiatoren, Photostabilisatoren und Polymere. Auch in der vorliegenden Arbeit kam die Methode der direkten Testung mit Pulvern in der Zellkultur bei der Untersuchung von Dentalzementen und Bioverit II (Bioglaskeramik) zum Einsatz.

Der XTT-Test lässt sich ausgezeichnet nutzen, um bestimmte Einflüsse auf die Biomaterialien und ihre Auswirkungen auf die Zelltoxizität zu untersuchen. So beschrieben Camps et al. 1997 ein Experiment zur Untersuchung von Bondingmaterialien und Kompositen (Dentaladhäsivsysteme) unter Bedingungen, wie sie in der Zahnkavität herrschen. Dazu wurden die Materialien nach Herstellerangaben vorbereitet, in Kavitäten von frisch extrahierten Zähnen gegeben und einem bestimmten simulierten „Pulpendruck“ ausgesetzt. Im Anschluss daran erfolgte die weitere Untersuchung der Materialien auf Zytotoxizität im MTT-Test an L929 Mausfibroblasten. Im Ergebnis interessierte die Beziehung zwischen der hydraulischen Beschaffenheit des Dentins und der verbleibenden zytotoxischen Wirkung der Dentalrestaurationssysteme.

Allgemein kann gesagt werden, dass sich Zellkulturen und Zellkulturtests als Verfahren zur Untersuchung von Biomaterialien hinsichtlich ihrer Verträglichkeit (Risikoabschätzung) immer mehr durchgesetzt haben und bewähren. Es steht eine große Zahl verschiedener Möglichkeiten der Testung zur Verfügung, wobei aber bedacht werden muss, dass aufgrund der relativ einfachen Versuchsanordnungen eine direkte Übertragung der Ergebnisse auf den Menschen unzulässig ist. Allerdings sind diese Ergebnisse Anhaltspunkt für grundsätzliche Wirkungen der Materialien auf lebendes Gewebe und lassen eine gezielte Planung weiterer Studien zu.

Die Untersuchung zahnärztlicher Werkstoffe der verschiedensten Gruppen wurden in der Literatur oft besprochen. In letzter Zeit stehen die neueren Füllungsmaterialien wie Komposite und Glasionomerzemente sowie deren Inhaltsstoffe im Mittelpunkt

des Interesses, da sie sich immer mehr verbreiten und in ständig verbesserter Form weite Anwendungsmöglichkeiten finden. So richten sich auch Anfragen an den wissenschaftlichen Informationsdienst der Deutschen Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde (DGZMK) bezüglich der Verträglichkeit von Kompositkunststoffen. Schmalz (2000) weist in einer in diesem Zusammenhang veröffentlichten Antwort darauf hin, direkten Körperkontakt zu vermeiden, um das Risiko für Hautirritationen und Allergien so gering wie möglich zu halten (Hamid und Hume, 1997; Guertsen, 1999). Composite, Kompomere und Glasionomerzemente werden auch als Amalgamalternative kontrovers diskutiert. Sicher ist, dass durch den Einsatz der genannten Werkstoffe die Ablagerung des Quecksilbers in den verschiedensten menschlichen Organen (z.B. Leber oder Niere) und die damit potenziell verbundenen, aber wissenschaftlich nicht eindeutig nachgewiesene Schädigungen vermieden werden können (Clarkson, 1997). Doch lässt sich auch bei anderen plastischen Füllungsmaterialien ein Mikroabrieb nachweisen. Auch wurden Monomere aus Füllungskunststoffen im Körper detektiert. Welcher Art die Schäden dieser Stoffe sind, ist noch weitgehend unbekannt. Gerade für die Composite werden verschiedene Nebenwirkungen diskutiert, so insbesondere Allergien (organische Stoffe!) einschließlich Anaphylaxie, die östrogene Wirkung des Bisphenol A, Kanzerogenität und Mutagenität, Aspiration von Füllkörpern (Silikose) oder toxische Wirkungen durch Monomere und Initiatoren auf Pulpa, Gingiva oder Parodont (Hickel, 2001). Hensten-Pettersen zeigte 1998 eindrucksvoll, dass neben dem Patienten gerade das zahnärztliche Personal gefährdet ist (z.B. durch Kontaktallergien, anaphylaktische Reaktionen, lichenoiden Reaktionen, Haut- und Schleimhautläsionen), wobei ein Gummihandschuh keine Barriere für die Monomere darstellt. Arbeiten von Arenholt-Bindslev (1998) bestätigten das gehäufte Auftreten von Symptomen bei regelmäßigem Kontakt mit Kompositmaterialien durch das Personal. Die in der vorliegenden Arbeit getesteten Stoffe stellen nur eine kleine Auswahl der vielschichtigen Palette der zahnärztlichen Materialien dar, werden aber in der zahnärztlichen Praxis sehr häufig angewendet. Die Monomere TEGDMA, HEMA und MA finden sich meist einzeln oder in Kombination in den Inhaltsangaben auf den Beipackzetteln der Composite, Kompomere, Dentaladhäsive oder Prothesenkunststoffe. Allen in dieser Arbeit getesteten Stoffen ist gemein, dass ihre Zytotoxizität von einer bis 24 Stunden Exposition ansteigt, dass heißt deutlich mehr Zellen geschädigt werden, je länger diese mit den Testsubstanzen in Kontakt sind.

Die beiden Quecksilberverbindungen Quecksilber(II)-chlorid und Methylquecksilberchlorid wurden als Positivkontrollen mitgetestet, um einen Anhaltspunkt für die Einschätzung der Zytotoxizitätsergebnisse der getesteten zahnärztlichen Materialien zu bekommen, wobei hohe Zytotoxizitäten zu erwarten waren. Es zeigte sich eine sehr erhöhte Toxizität von  $\text{HgCl}_2$  und  $\text{MeHgCl}$  gegenüber allen anderen getesteten Werkstoffen. Deutliche Zellschädigungen findet man bei den Quecksilberverbindungen schon nach einer Stunde Exposition, nach 24 Stunden sind besonders bei Methylquecksilberchlorid fast alle Zellen abgestorben. Dieser Stoff kann somit als die am stärksten zytotoxische Substanz der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Materialien bezeichnet werden. Wie Reichl et al. 1999 zeigten, haben  $\text{HgCl}_2$  und  $\text{MeHgCl}$  im LDH-Freisetzungstest nach 24 Stunden eine 140 - 260 fach erhöhte Toxizität gegenüber TEGDMA und HEMA. Reichl gibt in seiner Arbeit die  $\text{CC}_{50}$ -Werte für 24 Stunden Exposition für  $\text{HgCl}_2$  und  $\text{MeHgCl}$  mit 2,44  $\mu\text{g/ml}$  an, wobei die Werte in der vorliegenden Arbeit für  $\text{HgCl}_2$  1,01  $\mu\text{g/ml}$  und für  $\text{MeHgCl}$  0,53  $\mu\text{g/ml}$  betragen bei gleicher Exposition.

Stellvertretend für die Komposite wurden in der vorliegenden Arbeit Glacier, Wave und Spectrum in der Zellkultur mit dem XTT-Test EZ4U untersucht und direkt untereinander verglichen. Hierbei zeigten sich Unterschiede zwischen dem Ergebnis nach einer Stunde Exposition und nach 24 Stunden Exposition.

Bei einer Stunde Exposition mussten alle drei Stoffe mit höherer Konzentration eingewogen werden (ca. 70-80 mg/0,2ml), um überhaupt 50% der Zellen irreversibel zu schädigen. Komposite schädigen umso stärker die Zellen, je länger diese dem direkten Kontakt mit dem Werkstoff ausgesetzt sind. Nach einer Stunde Kontakt schädigen geringe Dosen die Zellen kaum, nach 24 Stunden dagegen deutlich, was in den grafischen Darstellungen ersichtlich ist (siehe Abb.5-7).

Wie Guertzen 1987 in einem Eluationsversuch für die Komposite Herculite, Occlusin und Distalite zeigte (Suspensionsausgangskonzentration 200 mg/ml), liegen die  $\text{CC}_{50}$ -Werte nach drei Tagen Eluation bei 1,2 mg/ml (Herculite), 1,3 mg/ml (Occlusin) und 4,7 mg/ml (Distalite). Distalite schädigt somit das Zellwachstum am wenigsten. Ein direkter Vergleich zwischen der genannten und der vorliegenden Arbeit ist aufgrund der Verschiedenartigkeit der Versuchsanordnung und der Kompositpräparate nicht möglich. Doch zeigen beide Untersuchungen gut, dass die Präparate im Milligramm-Bereich Zellschäden hervorrufen.

Wie bereits erwähnt, sind die Monomere TEGDMA, HEMA und MA Inhaltsstoffe vieler zahnärztlicher Materialien. Sie sind aber, wie viele Untersuchungen in der Literatur nachweisen, in der Zellkultur nicht ohne schädigendes Potenzial. In der Mundhöhle werden Unverträglichkeiten oft auf diese Monomere zurückgeführt (Kanzaki et al., 1989; Lehmann et al., 1993; Schendel et al., 1995; Munksgaard et al., 1996).

In der vorliegenden Arbeit erwies sich die Zytotoxizität dieser drei Monomere als sehr ähnlich. Nach einer Stunde Exposition steigt die Zytotoxizität mit zunehmender Konzentration (0,5 - 8 mg/ml Einwaage) von 7-15 % auf 60-70% Zytotoxizität an. Nach 24 Stunden Exposition werden bei gleicher Einwaage 20 bis 100% Zytotoxizität erreicht. Die  $CD_{50}$ -Werte machen deutlich, dass nach 24 Stunden Exposition mit einem Viertel der Dosis, die nach einstündiger Exposition 50% der Zellen schädigt, der gleiche Grad an Schädigung erreicht wird (siehe Tab.7 und 8).

In der Arbeit von Reichl et al. (1999) wird auf die toxischen Wirkungen von TEGDMA und HEMA ebenfalls hingewiesen. Spätere Arbeiten an Meerschweinchen zeigen, dass TEGDMA (radioaktiv markiert:  $^{14}C$ -TEGDMA) nach Applikation über die Jugularvene schnell vom Organismus eliminiert wird. Der Weg der Ausatmung stellt dabei den Hauptausscheidungsweg von TEGDMA aus dem Körper dar (Reichl et al., 2001 a,b).

Bouillaguet et al. (1996) untersuchten das schon lange Zeit in Bondings verwendete Monomer HEMA an BALB/c3T3 Mausfibroblasten mit Hilfe des MTT-Tests. Es zeigte sich in einer Versuchsanordnung, ähnlich der in der vorliegenden Arbeit verwendeten, dass HEMA-Lösungen, die in direkten Kontakt zu den Kulturzellen gebracht werden, mit steigender Konzentration zu einem Anstieg an abgestorbenen Zellen bzw. zu einem entsprechenden Abfall der Succinyldehydrogenaseaktivität führen. Die Kurven verlaufen bei einer Exposition von 12 bzw. 24 Stunden parallel, wobei nach 24 Stunden ein stärkerer toxischer Effekt zu registrieren ist.

Da von HEMA bekannt ist, dass es die Dentinkanälchen einer Zahnkavität passiert, kann geschlossen werden, dass die Pulpazellen bei Verwendung von Dentalmaterialien mit HEMA als Inhaltsstoff einen gewissen Schaden erleiden, jedenfalls bei Konzentrationen, wie sie in den beiden Arbeiten verwendet werden.

Aus zahnärztlicher Sicht wäre ergänzend anzumerken, dass die oft als „universell“ einsetzbar angepriesenen Komposite auch therapeutisch kritisch zu werten sind. So fand man heraus, dass TEGDMA beispielsweise als Substrat für kariogene Bakterien



dienen kann (Meyer, 2002), oder dass bei okklusionstragenden Füllungen im Seitenzahnbereich die Qualität der marginalen Adaptation im Dentin als problematisch einzustufen ist (Lutz et al., 2000) und somit ein Risiko für Sekundärkaries besteht.

All diese Fakten zeigen einmal mehr, dass man als Arzt oder Zahnarzt nicht unüberlegt Präparate einsetzen darf, ohne ihren therapeutischen Nutzen gegenüber einem möglichen Schaden genau abzuwägen. Besonders Langzeitwirkungen, die aufgrund ihrer nicht sofort sichtbaren Schädigungen oft nicht einkalkuliert werden, sind dabei zu berücksichtigen.

Die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Dentalzemente Ionofil Molar (Glasionomerzement) und Cupro Dur N (Siliko-Phosphatzement) wiesen ebenfalls deutliches zytotoxisches Potenzial auf. Sie wurden in Form von standardisierten Prüfkörpern und in pulverisierter Form getestet. Dabei zeigte sich eine noch stärkere Zytotoxizität bei den Pulvern, was mit der gegenüber den Prüfkörpern um ein Vielfaches vergrößerten Oberfläche zu tun hat (vgl. auch Wenz et al., 1990). Bei Ionofil Molar in pulverisierter Form war die  $CD_{50}$  bei einer Stunde Exposition etwa 25fach niedriger als die des festen Körpers. Bei Cupro Dur N ergab sich ein ähnliches Verhalten. Nach einer Stunde Exposition war die  $CD_{50}$  der Pulver 26fach kleiner als die der Prüfkörper. Bei Cupro Dur N reichten bereits geringe Mengen der Substanz (0,2 mg/0,2ml), um bei direktem Zellkontakt schon fast alle Zellen zu töten (siehe Abb. 18). Seine Zusammensetzung mit einem gewissen Anteil an Kupfer sowie Phosphat und die flüssige Komponente Phosphorsäure sind vermutlich für das stark toxische Verhalten verantwortlich (vgl. auch Beer et al., 1990).

Aufgrund der erhaltenen Zytotoxizitätswerte der Dentalzemente bei 24 Stunden Exposition (kaum Abstufung, alle Werte über 50%) ließen sich für die Prüfkörper keine CD-Werte berechnen. Bei den Pulvern ergaben bei 24 Stunden Exposition  $CD_{50}$ -Werte, die um die Hälfte (Ionofil Molar) bzw. 9fach (Cupro Dur N) kleiner waren als bei einer Stunde Exposition, was die Abhängigkeit der Zytotoxizität von der Einwirkzeit deutlich untermauert (siehe Abb. 16 und 18).

In der Literatur findet man auch Untersuchungen über Dentalzemente im Zellkulturtest. Beer et al. (1990) zeigten, dass Glasionomerzemente wie Ketac-Cem und Chelon-Fil sowie der Phosphatzement Adhesor Hep2-Zellen so stark schädigten, dass es zur Lyse aller Zellen kam. Als Ursache geben die Autoren die relativ langsame Umsetzung der Polykarbon- bzw. Phosphorsäure an.

Guertzen (1998) zeigte, dass besonders bei den Zementen die Inhaltsstoffe schnell in Lösung gehen bzw. der Erosion unterliegen (Untersuchungen in Milchsäure) und außerdem eine ständige pH-abhängige Ionenabgabe zu verzeichnen ist. Demzufolge sind Dentalzemente nur als temporäre, auch mittel- oder langfristige, nicht als definitive Versorgungslösungen zu empfehlen. Ein Vorteil dieses Ionen-abgebenden Verhaltens besteht jedoch darin, dass auch Fluoridionen ständig abgegeben werden, die in den Glasionomeren enthalten sind und so zur Kariesprophylaxe beitragen (Schmalz et al., 1994).

Auch die Kompomere, die in ihrer Zusammensetzung und ihren Eigenschaften zwischen den Kompositen und Glasionomerzementen anzusiedeln sind (lichthärtend, Kunststoffbasis, Fluoridabgabe), erwiesen sich in der vorliegenden Arbeit als nicht völlig unbedenklich. Ihre zytotoxische Wirkung beruht auf deren Zusammensetzung und auf dem nachgewiesenen Austritt von schädigenden Monomeren wie z.B. UDMA, MA oder TEGDMA sowie auf der Fluoridabgabe, die wahrscheinlich dazu wesentlich beiträgt (Wataha et al., 1994; Yourtee et al., 1994).

Von den drei in dieser Arbeit untersuchten Produkten ist F2000 ( $CD_{50}$  bei 1h Exposition: 63,43 mg/0,2ml) am stärksten zelltoxisch, gefolgt von Dyract ( $CD_{50}$  bei 1h Exposition: 88,23 mg/0,2ml) und Freedom ( $CD_{50}$  bei 1h Exposition: 162,38 mg/0,2ml). Freedom schädigt im direkten Vergleich der drei Stoffe die Zellen am wenigsten. Nach 24 Stunden Exposition liegt die Zytotoxizität der drei Kompomere zwischen 60 und 80%.

Aufgrund der gezeigten Effekte kann davon ausgegangen werden, dass sich die Kompomere ähnlich verhalten wie die Komposite und unter Praxisbedingungen ebenfalls Zellschädigungen hervorrufen. Wenngleich aus den Ergebnissen eines Zellkulturtests nicht direkt auf das Verhalten in vivo geschlossen werden darf, ist eine genaue Analyse der Komposite und Prüfung auf Biokompatibilität vor dem Einsatz beim Patienten unbedingt erforderlich.

Am wenigsten toxisch reagierte die Biokeramik Bioverit II. Die Glimmer-(Apatit)-Glas-Keramik ist ein sehr harter Werkstoff, der im menschlichen Gewebe nicht in Lösung geht und somit als bioinert bezeichnet werden kann. Gerade als ganzer Körper (in der vorliegenden Arbeit in Würfelform) ist ihre Zytotoxizität sehr gering und Zellschädigungen sind in diesem Fall mehr auf eine direkte Zerstörung durch den großen Prüfkörper in der Kavität zurückzuführen, als auf austretende toxisch wirkende Bestandteile. In Pulverform zeigte sich nach 24 Stunden Exposition jedoch



auch für Bioverit II eine zytotoxische Wirkung. Bioverit II gilt laut Hersteller (BIOVERT, VITRON Spezialwerkstoffe GmbH Jena, 1997) als bioinerte Keramik. Bei einer solchen kommt es mit dem umgebenden Gewebe zu keinerlei Ionenaustauschprozessen, es finden keine chemischen Reaktionen statt. Unter diesem Aspekt ist der Einsatz von Biokeramik in der Medizin zu empfehlen.

Vergleichend lässt sich sagen, dass nachdem Amalgam in den letzten Jahren aufgrund seines Quecksilbergehaltes immer mehr in die Kritik geraten ist, auch zu anderen Füllungsmaterialien wie Kunststoffen oder Gold die Diskussion über die Biokompatibilität zugenommen hat. Allgemein darf festgehalten werden, dass zahlreiche Behauptungen über Nebenwirkungen ohne wissenschaftlich fundierte Untersuchungen abgegeben wurden. Wie bei Arzneimitteln, kann auch bei Medizinprodukten ein gewisses Risiko von Nebenwirkungen („Restrisiko“) nie ganz ausgeschlossen werden. Nach heutigem Kenntnisstand besteht aber bei keinem der von der Deutschen Gesellschaft für Zahnerhaltung empfohlenen Füllungsmaterialien ein unvertretbares Risiko (Hickel, 2001).

So zeigte sich auch in der vorliegenden Arbeit, dass kein getestetes Material in der hier durchgeführten Testweise mit dem XTT-Tetrazoliumreduktionstest EZ4U ohne schädigende Reaktionen auf die U937-Zellen blieb, also gewisse Reaktionen oder Schädigungen auch bei korrekter Verarbeitung der Materialien in der Praxis nicht auszuschließen sind. Bei direktem Kontakt zwischen Zellen und Testmaterial war in vitro immer eine Schädigung zu verzeichnen, vor allem wenn das Material länger als eine Stunde auf die Zellen einwirkte. Der XTT-Test zeigte sich hier als äußerst empfindlich, so dass eindeutige Reaktionen abzulesen waren. Dank der immer gleichen Versuchsanordnung, Durchführung und Dauer der Exposition waren auch Vergleiche zwischen verschiedenen Testmaterialien einer Gruppe möglich.

Den XTT-Tetrazoliumreduktionstest EZ4U zeichnet vor allem seine einfache Handhabung und gute Reproduzierbarkeit aus. Der erstmals 1983 von Mosmann beschriebene Test wurde in der Zwischenzeit oftmals überarbeitet und verbessert und wird als ein Standardverfahren im Zellkulturtest zur Prüfung von Biomaterialien angesehen.

Da In-vitro-Tests und Tierversuche unter verschiedenen experimentellen Bedingungen durchgeführt werden, lassen sich die Ergebnisse von Zellkulturtests nicht unmittelbar auf In-vivo-Verhältnisse übertragen. Der Zellkulturtest ist als erste

Stufe der Biokompatibilitätsprüfung anzusehen. Er kann jedoch wertvolle Hinweise zur grundsätzlichen Zellverträglichkeit eines Werkstoffes geben und Materialien mit besonders hohem Schädigungspotenzial ggf. von weiteren Testungen ausschließen.

Für die im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Materialien konnte folgendes Toxizitäts-Ranking aufgestellt werden: Cupro Dur N Pulver > Ionofil Molar Pulver > Bioverit II Pulver > Cupro Dur N Prüfkörper > Ionofil Molar Prüfkörper > F2000 > Wave > Glacier > Spectrum > Dyract > Freedom, wobei Cupro Dur N Pulver ein besonders hohes und Freedom ein geringes Zytotoxizitätspotenzial bei einer Stunde Exposition besitzen. Bei den Monomeren ergab sich bei einer Stunde Exposition folgendes Toxizitätsranking: MA > TEGDMA > HEMA.

Toxische In-vivo-Reaktionen lassen sich auf dieser Testebene nicht ausschließen. Ob diese jedoch für die Praxis relevant oder vernachlässigbar gering sind, kann nur in geeigneten tierexperimentellen und kontrollierten klinischen Studien geklärt werden.

## 8. Schlussfolgerungen

In der vorliegenden Studie wurden ausgewählte Dentalwerkstoffe - 2 Dentalzemente, 3 Komposite, 3 Kompomere und eine Bioglaskeramik sowie die Kunststoffmonomere MA, TEGDMA und HEMA - im XTT-Reduktionstest EZ4U an humanen U937-Zellen vergleichend auf ihr zytotoxisches Potenzial nach ein- und 24-stündiger Exposition geprüft.

Der XTT-Reduktionstest EZ4U ist für eine vergleichende Bewertung des zytotoxischen Effektes von Dentalwerkstoffen und von Kunststoffmonomeren geeignet.

Feste Prüfkörper eignen sich für die Beurteilung der Zelltoxizität besser als daraus hergestellte Eluate, da der Einsatz von Eluaten mit einem unrealistischen Zytotoxizitätsverlust einhergeht.

Prüfkörper sind als Ganzes, nicht in pulverisierter Form anzuwenden, da die Pulverisierung zu unkontrollierter Oberflächenvergrößerung und damit zu erhöhter Zytotoxizität führt.

Erforderlich für die Testung sind frisch hergestellte Prüfkörper gleicher Oberfläche in praxisrelevanter Größe.

Zur vergleichenden Bewertung der Materialien untereinander sind von den Prüfkörpern halbmaximale Dosen ( $CD_{50}$ ) aus den Gewichts-abhängigen Zytotoxizitätswerten zwischen 10 und 90% zu ermitteln. Der  $CD_{50}$ -Wert ist die Stoffmenge/0,2 ml Medium, die die Tetrazoliumreduktion der U937-Zellen um 50% vermindert.

Auf der Basis der ermittelten  $CD_{50}$ -Werte erwiesen sich die Dentalzemente Ionofil Molar und Cupro Dur N mit  $CD_{50}$ -Werten von 12-18 mg/0,2ml nach einstündiger Exposition als am stärksten zytotoxisch. Eine etwa sechsfach geringere zytotoxische Wirkung nach einer Stunde Exposition hatten die Komposite Glacier, Wave und Spectrum mit  $CD_{50}$ -Werten von 75-80 mg/0,2ml. Die Kompomere F2000 und Dyract lagen mit  $CD_{50}$ -Werten von 63-88 mg/0,2ml nach einstündiger Exposition in der Größenordnung der geprüften Komposite. Das Kompomer Freedom zeigte mit einem  $CD_{50}$ -Wert von 162 mg/0,2ml nach einer Stunde Exposition die geringste Zytotoxizität. Die Monomere HEMA, TEGDMA und MA erwiesen sich mit  $CC_{50}$ -Werten von 3,5-5,6 mg/ml bei einer Stunde Exposition etwa 70-80 mal zytotoxischer als die Komposite und Kompomere.

Die als Positivkontrolle dienenden mit Quecksilber(II)-chlorid bzw. Methylquecksilberchlorid behandelten U937-Zellen waren mit  $CC_{50}$ -Werten von 1 bzw. 0,5  $\mu\text{g/ml}$  bei 24 Stunden Exposition gegenüber TEGDMA 500-1000 fach zytotoxischer. Damit konnte die Funktionalität des verwendeten Testsystems belegt werden.

Stoffmengen, die nahezu keine Schädigung der U937-Zellen bewirken, liegen unterhalb der  $CD_{10}$ -Werte. Die  $CD_{10}$ -Werte sind die Stoffmengen, die die Tetrazoliumreduktion der Zellen um 10% vermindern.

Eine geringe Schädigung der U937-Zellen (10%) tritt bei den Kompositen Spectrum, Glacier und Wave zwischen 8 und 45 mg/0,2ml, bei dem Kompomer F2000 bei 6 mg/0,2ml und bei den Kompomeren Dyract und Freedom bei 20 bzw. 28 mg/0,2ml ein (1h Exposition). Bei den Dentalzementen Cupro Dur N und Ionofil Molar müssen die Stoffmengen unterhalb 0,39 mg/0,2ml bzw. 4 mg/0,2ml liegen, damit keine Zellschädigung eintritt, bei gleicher Exposition.

Die Zytotoxizität der untersuchten Dentalmaterialien ist abhängig von der Art des Materials, vom Gewicht bzw. von der Oberfläche des Prüfkörpers sowie von der Dauer der Exposition.

Die Zytotoxizität der Dentalwerkstoffe ist nicht nur auf diffusible Monomere, sondern zu einem wesentlichen Teil auch auf die Beschaffenheit der Materialoberfläche zurückzuführen.

Die aus frisch hergestellten praxisrelevanten Prüfkörpern ermittelten  $CD_{50}$ -Werte könnten für Dentalwerkstoffprüfkörper die Grundlage für eine Klassifizierung nach dem Grad der Zytotoxizität (beispielsweise sehr zytotoxisch, zytotoxisch, minder zytotoxisch, nicht zytotoxisch), wie es für Arzneimittel und Chemikalien üblich ist, darstellen.

Wegen der nicht voraussagbaren Zeitabhängigkeit der zytotoxischen Wirkung sollten mindestens zwei definierte Expositionszeiten (z.B. 1h, 24h) untersucht werden.

Der XTT-Reduktionstest EZ4U ist als Methode zur Biokompatibilitätsprüfung zu empfehlen, da er viele Vorteile in sich vereint: So ist er nicht radioaktiv, genau, schnell durchzuführen, zuverlässig, einfach anzuwenden und nicht toxisch. Das gebildete farbige Formazan ist wasserlöslich. Der zeitaufwendige Zwischenschritt zur Lösung des Reaktionsproduktes entfällt somit.

## 9. Literaturverzeichnis

Arenholt-Bindslev D (1998) Environmental aspects of dental filling materials.  
Eur J Oral Sci 106:713-720

Autian J (1974) General toxicity and screening tests for dental materials.  
Int Dent J 14:235

Balls M, Botham PA, Bruner LH and Spielmann H (1995) The EC/HO international validation study on alternatives to the Draize Eye Irritation Test.  
Toxicol in Vitro 6:871-929

Bean TA, Zhuang WC, Tong PY, Eick JD, Chappelow CC and Yourtee DM (1995) Comparison of tetrazolium colorimetric and <sup>51</sup>Cr release assays for cytotoxicity determination of dental biomaterials.  
Dent Mater 11:327-331

Beer R, Gängler P, Wutzler P und Krehan F (1990) Vergleichende biologische Prüfung des Glasionomerzementes Ketac-Bond.  
Dtsch Zahnärztl Z 45:202-208

Bengel W (1998) Sturm auf die Kavität.  
Zahnärztl Mitt 88, 15:10

BIOVERIT- Technische Information, Grundlagen (1997)  
Informationsschrift der VITRON Spezialwerkstoffe GmbH, Otto-Schott-Str. 13, 07745 Jena

Bouillaguet S, Wataha JC, Hanks CT, Ciucci B and Holz J (1996) In vitro cytotoxicity and dentin permeability of HEMA.  
J Endod 22:244-248

Brosin A, Wolf V, Mattheus A and Heise H (1997) Use of XTT-assay to assess the cytotoxicity of different surfactants and metal salts in human keratinocytes (HaCaT).

Acta Derm Venerol Suppl (Stockh) 77:26-28

Browne RM (1986) In vitro cytotoxicity testing of dental restorative materials.  
CRC Crit Rev Biocompatibility 1:85

Browne RM and Tyas MJ (1979) Biological testing of dental restorative materials in vitro- a review.  
J Oral Rehabil 6:365

Bundeszahnärztekammer und Kassenzahnärztliche Bundesvereinigung: Informationen über zahnärztliche Arzneimittel 2000.  
Herausgeber: Bundeszahnärztekammer und Kassenzahnärztliche Bundesvereinigung, 2000

Camps J, Tardieu C, Dejou J, Frankquin JC, Ladaique P and Rieu R (1997) In vitro cytotoxicity of dental adhesive systems under simulated pulpal pressure.  
Dent Mater 13:34-42

Carmicheal J, De Graff WG, Gazdar AF, Minna JD and Michell JB (1987) Evaluation of a tetrazolium-based semiautomatic colorimetric assay: Assessment of chemosensitivity testing.  
Cancer Res 47:936-942

Ciapetti G, Cenni E, Pratelli L and Pizzoferrato A (1993) In vitro evaluation of cell/biomaterial interaction by MTT assay.  
Biomaterials 14:359-363

Clarkson TW (1997) The toxicology of mercury.  
Crit Rev Clin Lab Sci 34:369-403

Comley JC and Turner CH (1990) Potential of a soluble tetrazolium/ formazan assay for the evaluation of filarial viability.  
Int J Parasitol 20:251-255

Cory AH, Owen TC, Barltrop JA and Cory JG (1991) Use of an aqueous soluble tetrazolium/ formazan assay for cell growth assays in culture.

Cancer Communications 3:207-212

Das Dental Vademekum 7 (2000)

Deutscher Ärzte Verlag, Köln, 7. Ausgabe

Denizot F and Lang R (1986) Rapid colorimetric assay for cell growth and survival. Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability.

J Immunol Methods 89:271-277

Di Corleto PE and de la Motte CA (1985) Characterisation of the adhesion of the monocytic cell line U937 to cultured endothelial cells.

J Clin Invest 75:1153

European Committee for Standardization Brussels (1994) EN 1441: Medical Devices - Risk Analyses.

Europaen Committee for Standardization Brussels (1996) EN 540: Clinical testing of medical devices.

EZ4U (easy for you), nicht radioaktiver Zellproliferations- und Zytotoxizitätstest.

Firmenschrift der Biomedica- Gesellschaft mbH, Juli 1995

Ferrari M, Fornasiero MC and Isetta AM (1990) MTT colorimetric assay for testing macrophage cytotoxic activity in vitro.

J Immunol Methods 131:165-172

Gängler P: Dentinkaries und Pulpitis. In: Gängler P (Hrsg): Klinik der Konservierenden Zahnheilkunde.

Verlag Gesundheit, Berlin, 2. Auflage (1991) S. 143-151

Gebhardt M and Geier J (1996) Evaluation of patch test results with denture material series.

Contact Dermatitis 34:191-195

Giersch S (1999) Untersuchungen zur Zytotoxizität von Antiseptika an U937- und HaCat-Zellen mit dem XTT-Tetrazoliumreduktionstest EZ4U.

Diplomarbeit an der Martin Luther Universität Halle Wittenberg, Fachbereich Pharmazie

Groth T, Falck P and Miethke RR (1995) Cytotoxicity of biomaterials- basic mechanisms and in vitro test methods: A review.

ATLA 23:790-799

Guertsen W (1987) Untersuchungen zur zellulären Verträglichkeit von Kompositen für den Seitenzahnbereich.

Dtsch Zahnärztl Z 42:960-963

Guertsen W: Die zelluläre Verträglichkeit zahnärztlicher Komposite.

Hanser Verlag, München (1988) S. 43-44

Guertsen W (1998) Substances released from dental resin composites and glass ionomer cements.

Fur J Oral Sci 106:687-695

Guertsen W (1999) Variability of cytotoxicity and leaching of substances from four light-curing pit and fissure sealants.

J Biomed Mater Res 44:73-77

Hallström U (1993) Adverse reaction to a fissure sealant.

(ASDA) J Dent Child 3–4:143

Hamid A and Hume WR (1997) A study of component release from resin pit and fissure sealants in vitro.

Dent Mater Res 44:98-102



Hanks CT, Wataka JC and Sun Z (1996) In vitro models of biocompatibility: A review.  
Dent Mater 12:186-193

Hanks CT, Diehl ML, Craig RG, Makinen PL and Passhley DH (1989) Characterisation of the „in vitro pulp chamber“ using the cytotoxicity of phenol.  
J Oral Pathol 18:97-107

Harhammer R (2001) Zur Risikobewertung des zahnärztlichen Füllungswerkstoffes.  
Bundesgesundheitsbl- Gesundheitsforsch- Gesundheitsschutz 44:149-154

Henning G (1998) Methoden zur Biokompatibilitätsprüfung von Dentallegierungen.  
Die Zahnarztwoche Spezial 1-2

Hensten-Pettersen A (1998) Skin and mucosal reactions associated with dental materials.  
Eur J Oral Sci 106:707-712

Hentschel K und Klöcking HP: Toxikologische Bewertung von Kunststoffen.  
In: Oberbach K (Hrsg): Kunststoff-Taschenbuch/Saechtling.  
Hanser Verlag, München (1998) 27. Auflage, S. 57-58

Hickel R (2001) Moderne Füllungsmaterialien.  
Script zum IUZ Kurs der Zahnärztekammer Thüringen am 4.4.2001, S. 5-11

Höcker H und Klee D (1996) Ziele, Möglichkeiten und Grenzen der Oberflächenmodifizierung von Polymeren als medizinische Implantate.  
IXth. Colloquium on Biomaterials, Aachen

Hoffmann K (1997) Der [<sup>3</sup>H]Arachidonsäurefreisetzungstest zur Bewertung der Zytomembrantoxizität von Kunststoffartikeln und Biomaterialien.  
Dissertation an der Friedrich-Schiller-Universität Jena

Hume WR (1998) Methods of assessments in vitro of restorative material cytotoxicity using an intact human dentine diffusion step.

Int Endod J 21:85-88

Jacker HJ: Toxikologische Prüfung von Biomaterialien.

In: Klöcking HP, Güttner J und Wiezorek WD (Hrsg): Aktuelle Probleme der Toxikologie. Band 7. Zur Toxikologie von Biomaterialien.

Verlag Gesundheit, Berlin (1990) S. 30-49

Kanerva L, Estlander T and Jolanki R (1989) Allergic contact dermatitis from dental composite resins due to aromatic epoxy acrylates and aliphatic acrylates.

Contact Dermatitis 20:201-211

Kanzaki T, Kabasawa Y, Jinno T and Isayama K (1989) Contact stomatitis due to methyl methacrylat monomer.

Contact Dermatitis 20:146-148

Klöcking R, Schacke M und Wutzler P (1995) Primärscreening antiherpetischer Verbindungen mit EZ4U.

Chemotherapie J 3:141-147

Klöcking HP, Hoffmann K, Reif S und Klöcking R (1995) Determination of the cell membrane toxicity of biomaterials using the [<sup>3</sup>H]Arachidonic acid release in U937 cells.

Europ J Cell Biol Suppl Vol 171

Koch W (1997) Interview mit dem Referatsleiter für „Medizinprodukte und Normung“ im Bundesministerium für Gesundheit Dr.rer.nat. Gert H. Schorn.

Thuring Zahnärztebl 5:191-192

Lambrecht JT (1990) Zellkulturen menschlicher Osteoklasten zur Testung von Biomaterialien.

Dtsch Zahnärztl Z 45:82-86

Larrick JW, Fischer DG, Anderson SJ and Koren HS (1980) Characterisation of human macrophage-like cell line stimulated in vitro: a model of macrophage functions.

J Immunol 125:6-12

Lehmann F, Leyhausen G, Spahl W und Guertsen W (1993) Vergleichende Zellkultur-Untersuchungen von Kompositbestandteilen auf Zytotoxizität.

Dtsch Zahnärztl Z 48:651-653

Lewandowska-Szumiel M (1999) Alternativ methods for assessing biocompatibility and function of implantat materials.

ATLA 27:271-281

Lutz F, Besek M, Göhring T und Krejci I (2000) Amalgamersatz- klinisches Potenzial.

Acta Med Dent Hev 5:21-30

Madden MC, Becker S, Koren S and Friedmann M (1992) Differences in arachidonic acid metabolism by human myelomonocytic cell lines.

J Leukoc Biol 51:118-123

Meyer G (2002) Neue Füllungsmaterialien für den Seitenzahnbereich - eine kritische Wertung.

Script zum IUZ Kurs der Landeszahnärztekammer Thüringen am 16.1.2002:3, 4, 19-28

Mosman T (1983) Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays.

J Immunol Methods 65:55-63

Müller U und Jaske G (1996) Medizinprodukte und CE- Kennzeichnung.

IXth. Colloquium on Biomaterials, Aachen

Munksgaard EC, Hansen EK and Engen T (1996) Self-reported occupational dermatological reactions among Danish dentists.

Eur J Oral Sci 104:396-402

Oberg F and Nilsson K (1992) Differentiation and activation associated expression of IL-6 and IL-6 receptors in U937 monocytic cells: relationship to the expression of CD14.

Growth Factors 7:85-96

Ostman PO, Anneroth G and Skoglund A (1996) Amalgam-associated oral lichenoid reactions. Clinical and histological changes after removal of amalgam fillings.

Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 81:459-465

Pilz W (1997) Erläuterungen zum Medizinproduktegesetz.

Thuring Zahnärztebl 6:229-231

Pirovano R, Zaninelle P, Noben J, Logemann P, Southee J, Joller P and Coquette A (1993) European interlaboratory evaluation study of an in vitro ocular irritation model using 15 chemicals and 3 shampoos.

ATLA 21:81-88

Puza V, Novak L und Komarek S (1990) Vergleich der Zytotoxizität eines chemisch- und lichthärtenden Komposit-Füllungsmaterials im In-vitro-Experiment.

Dtsch Stomatol 40:357-359

Ratanasathien S, Wataha J, Hanks C and Dennison J (1995) Cytotoxic interactive effects of dentin bonding components on mouse fibroblasts.

J Dent Res 74:1602-1606

Redlich M, Harary D and Shoshan S (1996) Gingival response to a new multipurpose dental adhesive: a histologic study in dogs.

J Proth Dent 76:379-385

Reichl F, Durner J, Kunzelmann K, Hickel R, Spahl W, Hume W, Kehe K, Walther U and Forth W (2001a) Biological clearance of TEGDMA in guinea pigs.

Arch Toxicol 75:22-27

Reichl F, Walther U, Durner J, Kehe K, Hickel R, Kunzelmann K, Spahl W, Hume W, Benschop H and Forth W (1999) Cytotoxicity of Dental Materials in Lung Cells.

Institutsschrift Universität München:1-13

Reichl F, Durner J, Hickel R, Kunzelmann K, Jewett A, Wang M, Spahl W, Kreppel H, Moes G, Kehe K, Walther U, Forth W and Hume W (2001b) Distribution and excretion of TEGDMA in guinea pigs and mice.

J Dent Res 80:1412-5

Rinne H und Ickler G: Grundstudium Statistik.

Verlag Für Wirtschaftsskripten, München (1986) S. 145

Roehm NW, Rodgers GH, Hatfield SM and Glasebrook A (1991) An improved colorimetric assay for cell proliferation and viability utilizing the tetrazolium salt XTT.

Journal of Immunol Methods 142:257-265

Schedele A, Franz A, Rausch-Fan X, Samorapoompichit P, Boltz-Nitulescu G und Slavicek R (1994) Zellkulturuntersuchungen von zahnärztlichen Werkstoffen: Komposite im Vergleich zu Amalgam.

Zeitschrift für Stomatologie 6:39-42

Schendel U, Erdinger L, Komposch G und Sonntag HG (1995) Neonfarbene Kunststoffe für kieferorthopädische Apparaturen.

Fortschr Kieferorthop 56:41-48

Schmalz G (1988) The Agar Overlay Methode.

Int Endod J 21:59-66

Schmalz G (1994) Use of cell cultures for toxicity testing of dental materials - advantages and limitations.

Journal of Dental 22: Suppl. 2:6-11

Schmalz G (1995) Biological Evaluation of Medical Devices: A Review of EU Regulations, with Emphasis on In Vitro Screening for Biocompatibility.

ATLA 23:469-473

Schmalz, G (2000) Stellungnahme des Wissenschaftlichen Informationsdienstes der DGZMK bezüglich der Karzinogenität von Kompositkunststoffen.

Internet: [www.dgzmk.de](http://www.dgzmk.de), Wissenschaftliche Stellungnahmen

Schmalz G, Thonemann B, Riedel M and Elderton R (1994) Biological and clinical investigations of a glass ionomer base material.

Dent Mater 10:304-313

Schmalz G, Arenholt-Bindslev D, Pfüller S and Schweikl H (1997) Cytotoxicity of Metal Cations used in Dental cast Alloys.

ATLA 25:323-330

Schweikl H and Schmalz G (1996a) Evaluation of the mutagenic potential of root canal sealers using the Salmonella/Microsome Assay.

Journal of Material Science: Materials in Medicine 2:181

Schweikl H and Schmalz G (1996b) Toxicity parameters for cytotoxicity testing of dental materials in two different mammalian cell lines.

Eur J Oral Sci 104:292-299

Schweikl H, Schmalz G and Göttke C (1996) Mutagenic activity of various dentine bonding agents.

Biomaterials 17:1451-1456

Schweikl H, Schmalz G, Stimmelmayer H and Bey B (1995) Mutagenicity of AH26 in an in vitro mammalian cell mutation assay.

Journal of Endodontics 21:407-410

Scudiero DA, Shoemaker RH, Paull KD, Monks A, Tierney S, Nofziger TH, Currens MJ, Seniff D and Boyd MR (1998) Evaluation of a soluble tetrazolium/formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor celllines.

Cancer Res 48:4827-4833

Stanley HR (1992) Local and systemic responses to dental composites and glass ionomers.

Adv Dent Res 6:55-64

Sundström C and Nilsson K (1976) Establishment and characterisation of a human histiocytic lymphoma cell line (U937).

Int J Cancer 17:565-577

Svendsen O, Dideriksen LH, Jensen JC and Skydsgaard K (1990) Toxicological methods for the safety testing of polymer implantats and medical devices.

Medical Plastics `90. Symposium on Medical Device regulations and Toxicology Testing. Malmö

Sydiskis RJ and Gerhardt DE (1992) Cytotoxicity of impression materials.

J of Prothet Dent 69:431-435

Uludag H and Sefton MV (1990) Colorimetric assay for cellular activity in microcapsules.

Biomaterials 11:708-712

Ushijimi H, Kunisada T, Ami Y and Tsuchie H (1992) Characterisation of human immunodeficiency virus-1-infected cells of myeloid-monocytic lineage (ML-1, HL-60, TPH-1, U937).

J Acquir Immune Defic Syndrom 5:1001-1004

Wataha JC, Hanks CT, Strawn SE and Fat JC (1994) Cytotoxicity of components of resins and other dental restorative materials.

J Oral Rehabil 21:453-462

Wenz LM, Merrit K, Brown SA, Moet A and Steffee AD (1990) In vitro biocompatibility of polyetheretherketon and polysulfat composites.

J Biomed Mater Res 24:207-215

Wolf H: Biokompatibilität von Biomaterialien.

In: Klöcking HP, Güttner J und Wiezorek WD (Hrsg): Aktuelle Probleme der Toxikologie. Band 7. Zur Toxikologie von Biomaterialien.

Verlag Gesundheit, Berlin (1990) S. 1-17

Yoshii E (1997) Cytotoxic effects of acrylates and methacrylates: Relationships of monomer structures and cytotoxicity.

J Biomed Mater Res 15:517-524

Yourtee DM, Tong PY, Rose LA, Eick JD, Chappelow CC and Bean TA (1994) The effect of spiroorthocarbonate volume modifier co-monomers on the in vitro toxicology of trial non-shrinking dental epoxy copolymers.

Res Comm Molecul Pathol and Pharmacol 86:348-360



## **Anhang**

Auf den folgenden Seiten sind die erhaltenen Ergebnisse für die einzelnen getesteten Stoffe in tabellarischer Form aufgegliedert. Die entsprechenden Grafiken dazu befinden sich im Text unter 6.1..

<b>Zytotoxizität von Glacier im EZ4U, 1</b>					
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U					
mg/0,2 ml	12.99	55.33	81.70	111.60	Leerwerte 0.70
Extinsion	0.77	0.54	0.42	0.34	0.74
	0.46	0.53	0.66	0.12	0.69
	0.50	0.63	0.16	0.16	0.77
					0.69
					0.76
Mittelwert	0.58	0.57	0.42	0.20	0.73
Standartabw.	0.17	0.05	0.25	0.12	0.04
<b>Zytotoxizität</b>	22.12	22.05	44.26	71.81	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U					
mg/0,2 ml	14.16	57.56	78.70	109.54	Leerwerte 0.27
Extinsion	0.16	0.04	0.04	-0.01	0.30
	0.08	0.07	0.03	0.03	0.36
			0.06	0.05	0.27
					0.32
					0.28
Mittelwert	0.12	0.06	0.04	0.02	0.30
Standartabw.	0.06	0.02	0.01	0.03	0.04
<b>Zytotoxizität</b>	61.67	80.86	86.50	93.25	

<b>Zytotoxizität von Glacier im EZ4U, 2</b>					
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U					
mg/0,2 ml	14.80	49.91	84.90	110.49	Leerwerte 1.36
Extinsion	0.97	0.61	0.77	0.24	0.95
	0.93	1.19	0.62	0.21	1.50
	0.95	1.07		0.22	1.39
					1.21
					1.18
Mittelwert	0.95	0.96	0.70	0.22	1.26
Standartabw.	0.03	0.31	0.10	0.02	0.20
<b>Zytotoxizität</b>	24.68	24.21	44.94	82.27	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substat EZ4U					
mg/0,2 ml	14.30	57.58	84.26	109.74	Leerwerte 1.39
Extinsion	0.92	0.56	0.22	0.22	1.35
	0.79	0.41	0.22	0.28	1.54
	0.61	0.34	0.20	0.31	1.53
					1.38
					1.39
Mittelwert	0.78	0.43	0.21	0.27	1.43
Standartabw.	0.16	0.11	0.01	0.05	0.08
<b>Zytotoxizität</b>	45.69	69.59	85.14	81.08	

<b>Zytotoxizität von Glacier im EZ4U, 3</b>					
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U					
mg/0,2 ml	13.80	56.53	80.94	109.04	Leerwerte
Extinsion	1.41	1.40	0.64	0.38	2.25
	1.28	1.28	0.95	0.31	2.08
		1.15	0.86	0.24	2.45
					2.13
					1.23
					1.38
Mittelwert	1.34	1.28	0.81	0.31	1.92
Standartabw.	0.10	0.13	0.16	0.07	0.49
<b>Zytotoxizität</b>	29.97	33.42	57.67	83.94	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U					
mg/0,2 ml	13.21	56.11	84.93	112.10	Leerwerte
Extinsion	0.97	0.42	0.27	0.34	1.87
	0.98	0.43	0.41	0.15	1.83
	0.98		0.25	0.23	2.35
					1.87
					1.82
					1.89
Mittelwert	0.97	0.42	0.31	0.24	1.86
Standartabw.	0.01	0.01	0.09	0.10	0.20
<b>Zytotoxizität</b>	42.18	80.11	83.45	86.99	

<b>Glacier</b>					
Zytotoxizität von Glacier im EZ4U (Mittelwerte)					
mg/0,2 ml		13.88	55.50	82.57	110.42
	1h CT in %	22.12	22.05	44.26	71.81
		24.68	24.21	44.94	82.27
		29.97	33.42	57.67	83.94
CT in %	Mittelwert	25.59	26.56	48.96	79.34
	Standartabw.	4.00	6.04	7.55	6.57
	24h CT in %	61.67	80.86	86.50	93.25
		45.69	69.59	85.14	81.08
		42.18	80.11	83.45	86.99
CT in %	Mittelwert	49.85	76.85	85.03	87.11
	Standartabw.	8.48	5.15	1.25	6.09

<b>Zytotoxizität von Wave im EZ4U, 1</b>					
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U					
mg/0,2 ml	15.34	33.18	63.78	110.81	Leerwerte
Extinsion	1.12	0.75	0.77	0.65	1.39
	0.96	0.95	0.54	0.59	1.17
	0.93	0.86	0.59	0.45	1.21
					1.13
					1.13
					1.15
Mittelwert	1.00	0.85	0.63	0.56	1.12
Standartabw.	0.10	0.10	0.12	0.10	0.10
<b>Zytotoxizität</b>	<b>10.46</b>	<b>23.75</b>	<b>43.57</b>	<b>49.82</b>	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U					
mg/0,2ml	12.82	32.15	60.17	111.12	Leerwerte
Extinsion	0.79	0.51	0.50	0.46	1.35
	0.69	0.53	0.49	0.37	1.39
	0.48	0.65	0.46	0.41	1.32
					1.28
					1.22
					1.39
Mittelwert	0.65	0.57	0.49	0.41	1.33
Standartabw.	0.16	0.08	0.02	0.05	0.07
<b>Zytotoxizität</b>	<b>50.79</b>	<b>57.28</b>	<b>63.40</b>	<b>68.89</b>	

<b>Zytotoxizität von Wave im EZ4U, 2</b>					
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U					
mg/0,2ml	14.93	29.78	60.12	108.47	Leerwerte
Extinsion	0.86	0.76	0.66	0.45	1.11
	0.78	0.86	0.51	0.51	1.11
	0.95	0.62	0.40	0.43	1.00
					1.14
					1.01
					0.98
Mittelwert	0.86	0.75	0.52	0.47	1.06
Standartabw.	0.09	0.12	0.13	0.04	0.07
<b>Zytotoxizität</b>	<b>18.52</b>	<b>29.58</b>	<b>50.57</b>	<b>55.95</b>	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U					
mg/0,2ml	13.12	31.09	59.78	110.39	Leerwerte
Extinsion	0.62	0.49	0.38	0.32	1.21
	0.60	0.42	0.41	0.32	1.18
	0.41	0.52	0.42	0.33	1.14
					1.21
					1.12
					1.22
Mittelwert	0.55	0.48	0.40	0.32	1.18
Standartabw.	0.11	0.05	0.02	0.00	0.04
<b>Zytotoxizität</b>	<b>53.77</b>	<b>59.46</b>	<b>65.80</b>	<b>72.77</b>	

<b>Zytotoxizität von Wave im EZ4U, 3</b>					
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat					
mg/0,2 ml	14.71	30.28	59.67	110.20	Leerwerte
Extinsion	0.80	0.64	0.51	0.32	0.98
	0.85	0.69	0.50	0.46	0.83
	0.87	0.54	0.50	0.38	0.92
					0.91
					0.96
					0.91
Mittelwert	0.84	0.62	0.50	0.39	0.92
Standartabw.	0.04	0.07	0.01	0.07	0.05
<b>Zytotoxizität</b>	<b>8.18</b>	<b>30.10</b>	<b>45.04</b>	<b>57.91</b>	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U					
mg/0,2 ml	12.32	30.10	45.04	57.91	Leerwerte
Extinsion	0.32	0.36	0.33	0.23	0.88
	0.42	0.30	0.29	0.15	0.84
	0.39	0.29	0.48	0.21	0.91
					0.84
					0.81
					0.83
Mittelwert	55.58	62.51	68.78	76.62	0.85
Standartabw.	0.05	0.03	0.10	0.04	0.04
<b>Zytotoxizität</b>	<b>55.58</b>	<b>62.51</b>	<b>68.78</b>	<b>76.62</b>	

<b>Wave</b>					
Zytotoxizität von Wave im EZ4U (Mittelwerte)					
mg/0,2 ml		13.87	31.10	61.11	110.82
	1h CT in %	10.46	23.75	43.57	49.82
		18.52	29.58	50.57	55.95
		8.18	30.10	45.04	57.91
CT in %	Mittelwert	12.39	27.81	46.39	54.56
	Standartabw.	5.43	3.53	3.69	4.22
	24h CT in %	50.79	57.28	63.40	68.89
		53.77	59.46	65.80	72.77
		55.58	62.51	68.78	76.62
CT in %	Mittelwert	53.38	59.75	65.99	72.76
	Standartabw.	2.42	2.63	2.70	3.16

<b>Zytotoxizität von F2000 im EZ4U,1</b>					
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U					
mg/0,2 ml	8.92	21.31	42.17	80.19	Leerwerte
Extinsion	0.95	0.80	0.74	0.60	1.02
	0.99	0.74	0.70	0.51	1.13
	1.02	0.74	0.74	0.51	1.10
					1.21
					1.21
Mittelwert	0.99	0.76	0.72	0.54	1.13
Standartabw.	0.03	0.03	0.02	0.05	0.08
<b>Zytotoxizität</b>	<b>12.89</b>	<b>32.57</b>	<b>36.19</b>	<b>52.16</b>	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U					
mg/0,2 ml	7.39	19.12	38.98	81.15	Leerwerte
Extinsion	0.55	0.41	0.34	0.28	1.31
	0.49	0.40	0.39	0.35	1.29
	0.48	0.49	0.24	0.26	1.12
					1.23
					1.23
					1.24
Mittelwert	0.50	0.43	0.34	0.30	1.24
Standartabw.	0.04	0.05	0.08	0.05	0.07
<b>Zytotoxizität</b>	<b>59.22</b>	<b>65.05</b>	<b>72.41</b>	<b>75.89</b>	

<b>Zytotoxizität von F2000 im EZ4U, 2</b>					
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U					
mg/0,2 ml	8.13	22.48	42.92	79.22	Leerwerte
Extinsion	0.96	0.80	0.65	0.51	1.12
	0.81	0.58	0.62	0.55	1.08
	1.09	0.76	0.55	0.54	1.14
					1.21
					1.11
					1.28
Mittelwert	0.96	0.71	0.61	0.53	1.16
Standartabw.	0.14	0.12	0.05	0.02	0.08
<b>Zytotoxizität</b>	<b>17.23</b>	<b>38.35</b>	<b>47.01</b>	<b>53.85</b>	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U					
mg/0,2 ml	9.08	17.04	40.12	82.13	Leerwerte
Extinsion	0.53	0.38	0.25	0.23	1.07
	0.46	0.43	0.32	0.21	1.12
	0.54	0.40	0.33	0.28	1.31
					1.27
					1.11
Mittelwert	0.51	0.40	0.30	0.24	1.18
Standartabw.	0.04	0.03	0.04	0.03	0.10
<b>Zytotoxizität</b>	<b>56.34</b>	<b>65.79</b>	<b>74.29</b>	<b>79.74</b>	

<b>Zytotoxizität von F2000 im EZ4U, 3</b>					
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U					
mg/0,2 ml	9.32	18.12	42.91	78.24	Leerwerte
Extinsion	0.75	0.71	0.48	0.35	0.73
	0.69	0.60	0.42	0.31	0.91
	0.69	0.55	0.60	0.47	0.81
					0.89
					0.95
					0.81
Mittelwert	0.71	0.62	0.50	0.38	0.85
Standartabw.	0.04	0.08	0.09	0.08	0.08
<b>Zytotoxizität</b>	16.23	27.06	41.41	55.51	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U					
mg/0,2 ml	8.77	17.98	38.12	77.19	Leerwerte
Extinsion	0.36	0.32	0.26	0.18	0.83
	0.40	0.29	0.21	0.17	0.85
	0.42	0.30	0.29	0.19	0.79
					0.81
					0.88
					0.82
Mittelwert	0.39	0.30	0.26	0.18	0.83
Standartabw.	0.03	0.02	0.04	0.01	0.03
<b>Zytotoxizität</b>	52.78	63.64	69.08	78.50	

<b>F2000</b>					
Zytotoxizität von F2000 (Mittelwerte)					
mg/0,2 ml		8.60	19.34	40.87	79.69
	1h CT in %	12.89	32.57	36.19	52.16
		17.23	38.35	47.01	53.86
		16.23	27.06	41.41	55.51
CT in %	<b>Mittelwert</b>	15.45	32.66	41.54	53.84
	<b>Standartabw.</b>	2.27	5.65	5.41	1.68
	24h CT in %	59.22	65.05	72.41	75.89
		56.34	65.79	74.29	79.74
		52.78	63.64	69.08	78.50
CT in %	<b>Mittelwert</b>	56.11	64.83	71.93	78.04
	<b>Standartabw.</b>	3.23	1.09	2.64	1.97

<b>Zytotoxizität von Freedom im EZ4U, 1</b>					
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U					
mg/0,2 ml	27.12	49.90	85.14	106.31	Leerwerte
Extinsion	1.12	1.02	0.95	0.65	1.08
	1.08	0.99	1.00	0.63	0.85
	1.05		0.78	0.68	1.40
					1.48
					1.36
					1.26
Mittelwert	1.09	1.00	0.91	0.65	1.24
Standartabw.	0.04	0.02	0.12	0.03	0.23
<b>Zytotoxizität</b>	<b>12.43</b>	<b>19.00</b>	<b>26.39</b>	<b>47.46</b>	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U					
mg/0,2 ml	26.74	53.80	83.00	99.21	Leerwerte
Extinsion	0.14	0.05	0.10	0.02	0.52
	0.18	0.12	0.03	0.14	0.50
	0.16	0.17	0.08		0.48
					0.41
					0.48
					0.42
Mittelwert	66.17	76.00	84.78	83.43	0.47
Standartabw.	0.02	0.06	0.03	0.09	0.05
<b>Zytotoxizität</b>	<b>66.17</b>	<b>76.00</b>	<b>84.78</b>	<b>83.43</b>	

<b>Zytotoxizität von Freedom im EZ4U, 2</b>					
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U					
mg/0,2 ml	21.15	40.16	86.95	117.99	Leerwerte
Extinsion	1.26	1.20	1.49	0.79	1.49
	1.47	1.30	0.92	0.56	1.47
		1.40	1.20	0.58	1.57
					1.53
Mittelwert	1.36	1.30	1.20	0.64	1.51
Standartabw.	0.15	0.10	0.29	0.13	0.05
<b>Zytotoxizität</b>	<b>9.87</b>	<b>14.24</b>	<b>20.43</b>	<b>57.45</b>	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U					
mg/0,2 ml	23.56	41.23	87.14	110.25	Leerwerte
Extinsion	0.32	0.15	0.19	0.02	0.71
	0.26	0.12	0.07	0.06	0.90
	0.33		0.12	0.05	0.73
					0.78
					0.84
					0.68
Mittelwert	0.30	0.14	0.13	0.04	0.77
Standartabw.	0.04	0.02	0.07	0.02	0.08
<b>Zytotoxizität</b>	<b>60.92</b>	<b>82.51</b>	<b>83.59</b>	<b>94.47</b>	



<b>Zytotoxizität von Freedom im EZ4U, 3</b>					
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U					
mg/0,2 ml	22.18	45.38	84.91	105.19	Leerwerte
Extinsion	1.01	0.88	0.90	0.54	1.12
	1.13	0.97	0.83	0.53	1.28
	1.07	1.12	0.90	0.53	1.18
					1.07
					1.23
					1.15
Mittelwerte	1.07	0.99	0.88	0.53	1.17
Standartabw.	0.06	0.12	0.04	0.01	0.08
<b>Zytotoxizität</b>	<b>8.53</b>	<b>15.78</b>	<b>25.34</b>	<b>54.52</b>	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U					
mg/0,2 ml	25.21	43.79	82.19	107.28	Leerwerte
Extinsion	0.53	0.41	0.20	0.11	1.23
	0.49	0.32	0.24	0.11	1.18
	0.50	0.25	0.17	0.13	1.31
					1.20
					1.21
					1.26
Mittelwert	0.51	0.32	0.20	0.12	1.23
Standartabw.	0.02	0.08	0.04	0.01	0.05
<b>Zytotoxizität</b>	<b>58.84</b>	<b>73.70</b>	<b>83.44</b>	<b>90.50</b>	

<b>Freedom</b>					
Zytotoxizität von Freedom im EZ4U (Mittelwerte)					
mg/0,2 ml		24.33	47.21	84.89	107.71
	1h CT in %	12.43	19.00	26.39	47.46
		9.87	14.24	20.43	57.45
		8.53	15.78	23.34	54.52
CT in %	Mittelwert	10.28	16.34	23.39	53.14
	Standartabw.	1.98	2.43	2.98	5.14
	24h CT in %	66.17	76.00	84.78	83.43
		60.92	82.51	83.59	94.47
		58.84	73.70	83.44	90.50
CT in %	Mittelwert	61.98	77.40	83.94	89.47
	Standartabw.	3.78	4.57	0.73	5.59

<b>Zytotoxizität von Dyract im EZ4U, 1</b>						
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/0,2 ml	15.84	26.02	46.28	85.67	126.89	Leerwerte
Extinsion	1.01	0.87	0.89	0.81	0.39	1.29
	0.96	0.94	0.95	0.76	0.43	1.22
	1.38	1.20	1.01		0.39	1.32
						0.97
						1.37
						1.04
Mittelwert	1.12	1.01	0.95	0.79	0.40	1.20
Standartabw.	0.23	0.18	0.06	0.04	0.03	0.16
<b>Zytotoxizität</b>	<b>7.23</b>	<b>16.53</b>	<b>21.01</b>	<b>33.84</b>	<b>66.61</b>	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/0,2 ml	17.19	29.82	49.06	89.56	119.02	Leerwerte
Extinsion	0.69	0.47	0.46	0.22	0.12	1.23
	0.35	0.51	0.42	0.44	0.31	1.27
	0.46	0.41	0.47	0.26	0.41	1.28
						1.12
						1.21
						1.33
Mittelwert	0.50	0.46	0.45	0.31	0.28	1.24
Standartabw.	0.17	0.05	0.03	0.12	0.15	0.07
<b>Zytotoxizität</b>	<b>59.79</b>	<b>62.61</b>	<b>63.71</b>	<b>75.35</b>	<b>77.26</b>	

<b>Zytotoxizität von Dyract im EZ4U, 2</b>						
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/0,2 ml	13.57	28.58	47.25	86.74	122.06	Leerwerte
Extinsion	1.56	1.23	0.89	0.80	0.33	1.54
	1.29	1.31	1.11	0.68	0.60	1.26
	1.13	1.14	1.28	0.50	0.39	1.56
						1.31
						1.65
						1.39
Mittelwert	1.33	1.22	1.10	0.66	0.44	1.45
Standartabw.	0.22	0.09	0.19	0.15	0.14	0.15
<b>Zytotoxizität</b>	<b>8.49</b>	<b>15.47</b>	<b>24.4</b>	<b>54.56</b>	<b>69.68</b>	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/0,2 ml	18.04	30.99	46.31	88.00	121.72	Leerwerte
Extinsion	0.58	0.39	0.37	0.39	0.33	1.33
	0.58	0.40	0.31	0.33	0.17	1.28
	0.55	0.45	0.44	0.33	0.24	1.32
						1.33
						1.29
						1.33
Mittelwert	0.57	0.42	0.37	0.35	0.25	1.31
Standartabw.	0.02	0.03	0.06	0.04	0.08	
<b>Zytotoxizität</b>	<b>56.71</b>	<b>68.38</b>	<b>71.49</b>	<b>73.25</b>	<b>81.22</b>	

<b>Zytotoxizität von Dyract im EZ4U,3</b>						
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/0,2 ml	15.72	30.92	41.21	85.56	116.15	Leerwerte
Extinsion	1.80	2.00	1.42	1.27	0.45	1.84
	1.87	1.86	1.41	1.32	0.37	1.74
	1.78	1.31		1.14	0.84	2.23
						1.83
						2.46
						2.08
Mittelwert	1.82	1.72	1.42	1.24	0.55	2.03
Standartabw.	0.05	0.36	0.00	0.09	0.33	0.28
<b>Zytotoxizität</b>	<b>10.50</b>	<b>15.04</b>	<b>30.22</b>	<b>38.71</b>	<b>72.85</b>	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/0,2 ml	19.81	32.18	51.77	87.12	116.09	Leerwerte
Extinsion	0.60	0.60	0.62	0.62	0.33	1.76
	0.69	0.63	0.65	0.57	0.33	1.31
	0.64	0.57		0.56		1.61
						1.56
						1.80
						1.67
Mittelwert	0.64	0.60	0.63	0.58	0.33	1.62
Standartabw.	0.05	0.03	0.03	0.03	0.00	0.18
<b>Zytotoxizität</b>	<b>60.34</b>	<b>62.94</b>	<b>60.85</b>	<b>64.15</b>	<b>79.63</b>	

<b>Dyract</b>						
Zytotoxizität von Dyract (Mittelwerte)						
mg/0,2 ml		16.69	29.75	46.98	87.11	120.32
	1h CT in %	10.50	15.04	30.22	38.71	72.85
		8.49	15.47	24.40	54.56	69.68
		7.23	16.53	21.01	33.84	66.61
CT in %	Mittelwert	8.74	15.68	25.21	42.37	69.71
	Standartabw.	1.65	0.77	4.66	10.83	3.12
	24h CT in %	59.79	62.61	63.71	75.35	77.26
		56.71	68.38	71.49	73.25	81.22
		60.34	62.94	60.85	64.15	79.63
CT in %	Mittelwert	58.95	64.64	65.35	70.92	79.37
	Standartabw.	1.96	3.24	5.51	5.95	1.99

<b>Zytotoxizität von Ionofil Molar im EZ4U, 1</b>						
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/0,2 ml	15.07	22.64	36.74	56.70	79.29	Leerwerte
Extinsion	0.50	0.31	0.19	0.07	0.17	0.95
	0.71	0.48	0.25	0.21	0.30	0.86
	0.73	0.39	0.33	0.30	0.29	1.27
						1.21
						1.21
						1.12
Mittelwert	0.65	0.39	0.26	0.19	0.25	1.10
Standartabw.	0.16	0.13	0.09	0.07	0.11	0.16
<b>Zytotoxizität</b>	<b>34.68</b>	<b>64.66</b>	<b>76.73</b>	<b>77.18</b>	<b>77.12</b>	
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/0,2 ml	14.58	23.22	38.70	55.25	78.16	Leerwerte
Extinsion	0.14	0.07	-0.02	-0.03	-0.02	0.86
	0.19	0.16	-0.01	-0.01	-0.02	0.83
	0.14	0.08	-0.02	-0.02	-0.02	1.03
						0.89
						0.85
						0.77
Mittelwert	0.16	0.10	-0.02	-0.02	-0.02	0.87
Standartabw.	0.09	0.03	0.05	0.00	0.01	0.09
<b>Zytotoxizität</b>	<b>81.99</b>	<b>88.31</b>	<b>102.03</b>	<b>102.22</b>	<b>102.57</b>	

<b>Zytotoxizität von Ionofil Molar im EZ4U, 2</b>						
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/0,2 ml	12.00	22.06	37.87	53.10	79.04	Leerwerte
Extinsion	0.31	0.16	0.09	0.07	0.04	0.41
	0.35	0.19	0.16	0.07	0.07	0.60
	0.42	0.19	0.13	0.11	0.08	0.61
						0.40
						0.52
						0.54
Mittelwert	0.36	0.18	0.13	0.09	0.06	0.51
Standartabw.	0.05	0.02	0.04	0.02	0.02	0.09
<b>Zytotoxizität</b>	<b>30.11</b>	<b>65.30</b>	<b>75.49</b>	<b>83.27</b>	<b>87.87</b>	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/0,2 ml	11.79	23.20	37.94	53.80	80.39	Leerwerte
Extinsion	0.14	0.07	-0.02	-0.03	-0.03	0.86
	0.20	0.16	-0.01	-0.01	-0.02	0.85
	0.14	0.08	-0.01	-0.02	-0.02	1.01
						0.90
						0.85
						0.83
Mittelwert	0.16	0.10	-0.02	-0.02	-0.02	0.88
Standartabw.	0.03	0.05	0.00	0.01	0.00	0.07
<b>Zytotoxizität</b>	<b>82.03</b>	<b>91.79</b>	<b>101.77</b>	<b>102.04</b>	<b>102.60</b>	

<b>Zytotoxizität von Ionofil Molar im EZ4U, 3</b>						
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/0,2 ml	10.83	22.85	40.19	55.75	77.73	Leerwerte
Extinsion	0.56	0.47	0.21	0.13	0.11	0.82
	0.72	0.46	0.31	0.25	0.15	0.85
	0.65	0.44	0.23	0.25	0.15	1.15
						1.07
						0.98
Mittelwert	0.64	0.45	0.25	0.21	0.14	0.97
Standartabw.	0.08	0.01	0.05	0.07	0.02	0.14
<b>Zytotoxizität</b>	<b>33.84</b>	<b>53.34</b>	<b>74.31</b>	<b>78.04</b>	<b>85.78</b>	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/0,2 ml	12.41	23.68	37.00	52.07	77.99	Leerwerte
Extinsion	0.25	0.17	-0.02	-0.03	-0.02	1.86
	0.18	0.14	0.01	0.00	-0.01	1.17
	0.21	0.13	0.00	-0.01	-0.02	0.81
						1.15
						0.83
Mittelwert	0.21	0.15	-0.01	-0.01	-0.02	1.16
Standartabw.	0.03	0.02	0.01	0.01	0.00	0.43
<b>Zytotoxizität</b>	<b>81.79</b>	<b>87.54</b>	<b>100.43</b>	<b>101.06</b>	<b>101.41</b>	

<b>Ionofil Molar Körper</b>						
Zytotoxizität von Ionofil Molar im EZ4U (Mittelwerte)						
mg/0,2 ml		12.78	22.94	38.07	54.44	78.77
	1h CT in %	33.84	53.34	74.31	78.04	85.78
		34.68	64.66	76.73	77.18	77.12
		30.11	65.30	75.49	83.27	87.87
CT in %	Mittelwert	32.88	61.10	75.51	79.50	83.59
	Standartabw.	2.43	6.73	1.21	3.30	5.70
	24h CT in %	82.03	91.79	101.77	102.04	102.60
		81.99	88.31	102.03	102.22	102.57
		81.79	87.54	100.43	101.06	101.41
CT in %	Mittelwert	81.94	89.21	101.41	101.77	102.19
	Standartabw.	0.13	2.26	0.86	0.62	0.68

<b>Zytotoxizität von Ionofil Molar Pulver im EZ4U,1</b>						
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/0,2 ml	0.20	0.40	0.80	1.60	3.20	Leerwerte
Extinsion	1.21	0.85	0.78	0.04	0.02	1.08
	1.12	0.90	0.82	0.12	0.04	1.01
	1.26	0.90	0.60	0.18	0.04	1.45
						1.27
						1.58
						1.32
Mittelwert	1.20	0.88	0.74	0.11	0.03	1.29
Standartabw.	0.07	0.02	0.12	0.07	0.01	0.21
<b>Zytotoxizität</b>	<b>6.81</b>	<b>31.39</b>	<b>42.46</b>	<b>91.47</b>	<b>97.30</b>	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/0,2 ml	0.20	0.40	0.80	1.60	3.20	Leerwerte
Extinsion	0.80	0.62	0.11	0.08	0.00	1.03
	0.77	0.61	0.11	0.10	0.01	0.70
	0.70	0.58	0.11	0.08	0.02	1.29
						1.14
						1.33
						1.09
Mittelwert	0.76	0.60	0.11	0.09	0.01	1.10
Standartabw.	0.05	0.02	0.00	0.01	0.01	0.23
<b>Zytotoxizität</b>	<b>31.17</b>	<b>44.94</b>	<b>90.24</b>	<b>92.25</b>	<b>98.90</b>	

<b>Zytotoxizität von Ionofil Molar Pulver im EZ4U, 2</b>						
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/0,2 ml	0.20	0.40	0.80	1.60	3.20	Leerwerte
Extinsion	1.30	1.11	0.35	0.18	0.06	1.30
	1.16	0.88	0.73	0.13	0.07	1.11
	1.35	1.01	0.47	0.18	0.11	1.37
						1.51
						1.48
						1.17
Mittelwert	1.27	1.00	0.52	0.16	0.08	1.32
Standartabw.	0.11	0.11	0.19	0.03	0.03	0.16
<b>Zytotoxizität</b>	<b>3.81</b>	<b>24.37</b>	<b>61.11</b>	<b>87.71</b>	<b>94.26</b>	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/0,2 ml	0.20	0.40	0.80	1.60	3.20	Leerwerte
Extinsion	0.65	0.68	0.16	0.07	0.06	1.16
	0.81	0.59	0.06	0.06	0.04	1.06
	0.70	0.68		0.11	0.09	1.05
						1.01
						1.07
Mittelwert	0.72	0.65	0.11	0.08	0.06	1.07
Standartabw.	0.09	0.05	0.07	0.03	0.03	0.05
<b>Zytotoxizität</b>	<b>32.91</b>	<b>39.25</b>	<b>89.81</b>	<b>92.36</b>	<b>94.20</b>	

<b>Zytotoxizität von Ionofil Molar Pulver im EZ4U, 3</b>						
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/0,2 ml	0.2	0.4	0.8	1.6	3.2	Leerwerte
Extionsion	0.42	0.32	0.23	0.00	0.03	0.46
	0.48	0.33	0.34	0.13	0.02	0.48
	0.48	0.40	0.29	-0.01	0.02	0.48
						0.56
						0.54
Mittelwert	0.46	0.35	0.25	0.04	0.02	0.50
Standartabw.	0.03	0.05	0.05	0.08	0.01	0.04
<b>Zytotoxizität</b>	<b>8.96</b>	<b>30.81</b>	<b>49.90</b>	<b>92.06</b>	<b>95.58</b>	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/0,2 ml	0.2	0.4	0.8	1.6	3.2	Leerwerte
Extionsion	0.86	0.72	0.04	0.03	0.02	1.01
	0.85	0.66	0.08	0.15	0.03	1.22
	0.87	0.71	0.17	0.16	0.07	1.16
						1.08
						1.26
						1.15
Mittelwert	0.86	0.70	0.10	0.11	0.04	1.15
Standartabw.	0.01	0.03	0.07	0.07	0.03	0.89
<b>Zytotoxizität</b>	<b>24.90</b>	<b>39.37</b>	<b>91.52</b>	<b>89.98</b>	<b>96.63</b>	

<b>Ionofil Molar Pulver</b>						
Zytotoxizität von Ionofil Molar Pulver im EZ4U (Mittelwerte)						
mg/0,2 ml		0.20	0.40	0.80	1.60	3.20
	1h CT in %	6.81	31.39	42.46	91.47	97.30
		8.96	30.81	49.90	92.06	95.58
		3.81	24.37	61.11	87.71	94.26
CT in %	Mittelwert	6.53	28.86	51.16	90.41	95.71
	Standartabw.	2.59	3.90	9.39	2.36	1.52
	24h CT in %	32.91	39.25	89.81	92.36	94.20
		31.17	44.94	90.24	92.25	98.90
		24.90	39.37	91.52	89.98	96.63
CT in %	Mittelwert	29.66	41.19	90.52	91.53	96.58
	Standartabw.	4.21	3.25	0.89	1.34	2.35

Zytotoxizität von Cupro Dur N Pulver im EZ4U, 1						
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/0,2 ml	0.20	0.40	0.80	1.60	3.20	Leerwerte
Extinsion	1.07	0.85	0.26	0.23	0.11	1.72
	1.08	0.73	0.61	0.34	0.13	1.59
						1.64
						1.63
						1.86
						1.82
Mittelwert	1.07	0.79	0.44	0.28	0.12	1.71
Standartabw.	0.01	0.09	0.25	0.08	0.01	0.11
<b>Zytotoxizität</b>	37.33	53.92	74.46	83.50	93.15	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/0,2 ml	0.20	0.40	0.80	1.60	3.20	Leerwerte
Extinsion	0.02	0.04	0.03	0.01	0.00	1.31
	0.09	0.03	0.02	0.02	-0.01	1.30
	0.06	0.04		0.01		1.42
						1.41
						1.45
						1.62
Mittelwert	0.06	0.03	0.03	0.01	-0.04	1.42
Standartabw.	0.04	0.01	0.01	0.01	0.05	0.11
<b>Zytotoxizität</b>	95.84	97.64	98.24	99.12	102.78	
mg/0,2 ml	0.0065	0.0125	0.025	0.05	0.1	
<b>Zytotoxizität</b>	21.70	24.08	25.47	35.87	98.87	

Zytotoxizität von Cupro Dur N Pulver im EZ4U, 2						
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/0,2 ml	0.20	0.40	0.80	1.60	3.20	Leerwert
Extinsion	0.68	0.62	0.31	0.13	0.07	0.88
	0.53	0.36	0.30	0.02	0.05	0.87
	0.83					1.04
						0.89
						1.18
						0.96
Mittelwert	0.68	0.48	0.30	0.07	0.06	0.97
Standartabw.	0.15	0.18	0.00	0.07	0.01	0.12
<b>Zytotoxizität</b>	29.82	49.85	68.73	92.36	93.60	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/0,2 ml	0.20	0.40	0.80	1.60	3.20	Leerwerte
Extinsion	0.06	0.12	0.05	0.05	0.01	0.95
	0.13	0.07	0.03	0.03	-0.04	0.93
	0.09	0.09	0.04	0.04	-0.01	1.09
						0.94
						1.20
						1.01
Mittelwert	0.09	0.09	0.04	0.04	-0.01	1.02
Standartabw.	0.05	0.04	0.02	0.02	0.03	0.11
<b>Zytotoxizität</b>	90.78	90.82	96.08	96.37	101.32	
mg/0,2 ml	0.0065	0.0125	0.025	0.05	0.1	
<b>Zytotoxizität</b>	31.62	33.91	28.23	39.75	83.75	



<b>Zytotoxizität von Cupro Dur N Pulver im EZ4U, 3</b>						
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/0,2 ml	0.20	0.40	0.80	1.60	3.20	Leerwerte
Extinsion	0.95	0.77	0.47	0.27	0.19	1.33
	0.87	0.69	0.43	0.21	0.16	1.41
	0.91	0.69	0.39	0.18	0.15	1.38
						1.39
						1.30
						1.31
Mittelwert	0.92	0.72	0.43	0.22	0.17	1.36
Standartabw.	0.04	0.05	0.04	0.04	0.02	0.04
<b>Zytotoxizität</b>	<b>32.32</b>	<b>47.19</b>	<b>68.34</b>	<b>83.84</b>	<b>87.83</b>	
Expositionszeit 2h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/0,2 ml	0.20	0.40	0.80	1.60	3.20	Leerwerte
Extinsion	0.13	0.10	0.08	0.05	0.01	1.21
	0.11	0.11	0.10	0.04	0.01	1.19
	0.16	0.10	0.08	0.06	0.01	1.32
						1.49
						1.30
						1.32
Mittelwert	0.13	0.10	0.09	0.05	0.01	1.32
Standartabw.	0.02	0.01	0.01	0.01	0.00	1.30
<b>Zytotoxizität</b>	<b>89.79</b>	<b>92.17</b>	<b>93.40</b>	<b>96.08</b>	<b>99.39</b>	

<b>Cupro Dur N Pulver</b>						
Zytotoxizität von Cuprodur N Pulver im EZ4U (Mittelwerte)						
mg/0,2 ml		0.20	0.40	0.80	1.60	3.20
	1h CT in %	29.82	49.85	68.73	92.36	93.60
		37.33	53.92	74.46	83.50	93.15
		32.32	47.19	68.34	83.84	87.83
CT in %	Mittelwert	33.16	50.32	70.51	86.57	91.53
	Standartabw.	3.82	3.39	3.43	5.02	3.21
	24h CT in %	89.79	92.17	93.40	96.08	99.39
		95.84	97.64	98.24	99.12	102.78
		89.79	92.17	93.40	96.08	99.39
CT in %	Mittelwert	91.81	93.99	95.01	97.09	100.52
	Standartabw.	3.49	3.16	2.79	1.76	1.96
mg/0,2 ml	0.0065	0.0125	0.025	0.05	0.1	
<b>Zytotoxizität</b>	<b>26.66</b>	<b>28.99</b>	<b>26.85</b>	<b>37.81</b>	<b>88.33</b>	

<b>Zytotoxizität von Cupro Dur N im EZ4U, 1</b>					
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U					
mg/0,2 ml	12.31	24.92	50.74	100.79	Leerwerte
Extinsion	0.57	0.50	0.43	0.27	1.07
	0.53	0.45	0.39	0.21	1.11
	0.57	0.50	0.39	0.22	1.02
					1.10
					1.39
					1.10
Mittelwert	0.56	0.48	0.40	0.23	1.11
Standartabw.	0.02	0.03	0.03	0.03	0.13
<b>Zytotoxizität</b>	<b>49.86</b>	<b>56.46</b>	<b>63.86</b>	<b>79.04</b>	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U					
mg/0,2 ml	10.82	22.19	49.87	99.07	Leerwerte
Extinsion	0.17	0.14	0.09	0.05	1.35
	0.14	0.13	0.09	0.03	1.44
	0.17	0.11	0.06	0.04	1.40
					1.31
					1.38
					1.20
Mittelwert	0.16	0.12	0.08	0.04	1.35
Standartabw.	0.02	0.01	0.01	0.01	0.08
<b>Zytotoxizität</b>	<b>88.48</b>	<b>90.78</b>	<b>94.13</b>	<b>97.72</b>	

<b>Zytotoxizität von Cupro Dur N im EZ4U, 2</b>					
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U					
mg/0,2 ml	10.95	23.85	52.01	101.73	Leerwerte
Extinsion	0.67	0.51	0.42	0.33	1.21
	0.58	0.48	0.43	0.35	1.18
	0.57	0.52	0.42	0.32	1.24
					1.20
					1.28
					1.17
Mittelwert	0.61	0.50	0.43	0.33	1.21
Standartabw.	0.05	0.02	0.01	0.01	0.04
<b>Zytotoxizität</b>	<b>50.29</b>	<b>58.61</b>	<b>64.96</b>	<b>72.63</b>	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U					
mg/0,2 ml	13.08	22.17	51.08	102.68	Leerwerte
Extinsion	0.17	0.07	0.03	0.00	1.02
	0.11	0.08	0.04	0.00	1.10
	0.08	0.08	0.02	0.01	1.10
					1.12
					1.07
					1.07
Mittelwert	0.12	0.08	0.03	0.01	1.08
Standartabw.	0.05	0.01	0.01	0.01	0.04
<b>Zytotoxizität</b>	<b>88.89</b>	<b>93.06</b>	<b>97.04</b>	<b>99.54</b>	

<b>Zytotoxizität von Cupro Dur N im EZ4U, 3</b>					
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U					
mg/0,2 ml	10.19	24.12	50.73	99.24	Leerwerte
Extinsion	0.68	0.61	0.43	0.32	1.46
	0.73	0.58	0.42	0.31	1.38
	0.70	0.60	0.46	0.33	1.42
					1.41
					1.31
					1.36
Mittelwert	0.70	0.60	0.44	0.32	1.39
Standartabw.	0.02	0.02	0.02	0.01	0.05
<b>Zytotoxizität</b>	<b>49.46</b>	<b>57.02</b>	<b>68.47</b>	<b>77.10</b>	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U					
mg/0,2 ml	12.80	24.70	51.38	99.08	Leerwerte
Extinsion	0.10	0.08	0.02	0.02	1.39
	0.11	0.07	0.05	0.02	1.32
	0.10	0.11	0.03	0.01	1.28
					1.31
					1.39
					1.33
Mittelwert	0.10	0.09	0.03	0.02	1.34
Standartabw.	0.00	0.02	0.01	0.01	0.05
<b>Zytotoxizität</b>	<b>92.36</b>	<b>93.63</b>	<b>97.68</b>	<b>98.73</b>	

<b>Cupro Dur N Körper</b>					
Zytotoxizität von Cupro Dur N im EZ4U (Mittelwerte)					
mg/0,2 ml		11.69	23.66	50.83	100.43
	1h CT in %	49.46	57.02	68.47	77.1
		50.29	58.61	64.96	72.63
		49.86	56.46	63.86	79.04
CT in %	Mittelwert	49.87	57.36	65.76	76.26
	Standartabw.	0.42	1.12	2.41	3.29
	24h CT in %	88.48	90.78	94.13	97.72
		88.89	93.06	97.04	99.54
		92.36	93.63	97.68	98.73
CT in %	Mittelwert	89.91	92.49	96.28	98.66
	Standartabw.	2.13	1.51	1.89	0.91

<b>Zytotoxizität von Bioverit Pulver im EZ4U, 1</b>					
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U					
mg/0,2 ml	3.00	4.50	6.75	10.13	Leerwerte
Extinsion	0.79	0.57	0.51	0.32	1.17
	0.88	0.49	0.49	0.31	1.07
	0.75	0.57	0.52	0.27	1.34
					1.02
					1.23
					1.20
Mittelwert	0.81	0.54	0.51	0.30	1.17
Standartabw.	0.07	0.05	0.02	0.03	0.11
<b>Zytotoxizität</b>	<b>30.85</b>	<b>53.79</b>	<b>56.75</b>	<b>74.44</b>	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U					
mg/0,2 ml	3.00	4.50	6.75	10.13	Leerwerte
Extinsion	0.30	0.22	0.15	0.11	0.70
	0.30	0.16	0.14	0.04	0.66
	0.35	0.24	0.14	0.03	0.90
					0.79
					0.90
					0.84
Mittelwert	0.31	0.21	0.14	0.06	0.80
Standartabw.	0.03	0.04	0.01	0.04	0.10
<b>Zytotoxizität</b>	<b>60.70</b>	<b>74.15</b>	<b>82.01</b>	<b>92.26</b>	

<b>Zytotoxizität von Bioverit Pulver im EZ4U, 2</b>					
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U					
mg/0,2 ml	3.00	4.50	6.75	10.13	Leerwerte
Extinsion	0.89	0.49	0.39	0.30	1.11
	0.72	0.39	0.32	0.35	1.04
			0.42	0.29	1.10
					1.10
Mittelwert	0.84	0.44	0.38	0.32	1.09
Standartabw.	0.12	0.07	0.05	0.03	0.03
<b>Zytotoxizität</b>	<b>26.01</b>	<b>59.95</b>	<b>65.50</b>	<b>70.99</b>	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U					
mg/0,2 ml	2.00	4.50	5.75	10.13	Leerwerte
Extinsion	0.21	0.18	0.15	0.08	0.53
	0.19	0.19	0.08	0.07	0.78
	0.30	0.17	0.10	0.08	0.55
					0.60
					0.80
Mittelwert	0.23	0.18	0.11	0.08	0.65
Standartabw.	0.06	0.01	0.04	0.01	0.13
<b>Zytotoxizität</b>	<b>64.35</b>	<b>71.98</b>	<b>83.15</b>	<b>88.00</b>	

<b>Zytotoxizität von Bioverit Pulver im EZ4U, 3</b>					
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U					
mg/0,2 ml	3.00	4.50	6.75	10.13	Leerwerte
Extinsion	0.90	0.60	0.42	0.39	1.23
	0.88	0.59	0.51	0.34	1.18
	0.97	0.63	0.53	0.40	1.21
					1.20
					1.13
Mittelwert	0.92	0.61	0.49	0.38	1.19
Standartabw.	0.05	0.02	0.06	0.03	0.04
<b>Zytotoxizität</b>	<b>23.24</b>	<b>49.24</b>	<b>59.14</b>	<b>68.46</b>	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U					
mg/0,2 ml	3.00	4.50	6.75	10.13	Leerwerte
Extinsion	0.54	0.28	0.25	0.03	1.29
	0.43	0.21	0.20	0.03	1.23
	0.43	0.28	0.22	0.02	1.24
					1.21
					1.13
Mittelwert	0.46	0.26	0.22	0.28	1.22
Standartabw.	0.06	0.04	0.02	0.01	0.06
<b>Zytotoxizität</b>	<b>61.97</b>	<b>79.09</b>	<b>81.82</b>	<b>97.73</b>	

<b>Bioverit Pulver</b>					
Zytotoxizität von Bioverit Pulver (Mittelwerte)					
mg/0,2 ml		3.00	4.50	6.75	10.13
	1h CT in %	26.01	59.95	65.50	70.99
		30.85	53.79	56.75	74.44
		23.24	49.24	59.14	68.46
CT in %	Mittelwert	26.70	54.33	60.46	71.30
	Standartabw.	3.85	5.38	4.52	3.00
	24h CT in %	61.97	79.09	81.82	97.73
		64.35	71.98	83.15	88.00
		60.70	74.15	82.01	92.26
CT in %	Mittelwert	62.34	75.07	82.33	92.66
	Standartabw.	1.85	3.64	0.72	4.88

<b>Zytotoxizität von Spectrum im EZ4U, 1</b>						
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/0,2 ml	13.62	31.28	45.78	86.38	114.38	Leerwerte
Extinsion	0.99	0.76	0.76	0.73	0.54	1.32
	1.07	0.88	0.67	0.71	0.60	1.21
	1.16	0.97	0.82	0.78	0.60	1.07
						1.22
						1.28
						1.33
Mittelwert	1.07	0.87	0.75	0.74	0.58	1.24
Standartabw.	0.09	0.11	0.08	0.04	0.04	0.10
<b>Zytotoxizität</b>	<b>13.48</b>	<b>29.70</b>	<b>39.37</b>	<b>40.27</b>	<b>53.10</b>	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/0,2 ml	15.74	29.28	43.19	84.54	116.30	Leerwerte
Extinsion	0.64	0.42	0.27	0.20	0.10	1.40
	0.58	0.51	0.31	0.32	0.19	1.29
	0.75	0.37	0.26	0.15	0.21	1.02
						1.19
						1.17
						1.20
Mittelwert	0.66	0.43	0.28	0.22	0.17	1.21
Standartabw.	0.09	0.07	0.03	0.09	0.06	0.13
<b>Zytotoxizität</b>	<b>45.87</b>	<b>64.35</b>	<b>76.81</b>	<b>81.52</b>	<b>86.39</b>	

<b>Zytotoxizität von Spectrum im EZ4U, 2</b>						
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZU4						
mg/0,2 ml	12.18	29.60	46.25	89.54	115.71	Leerwerte
Extinsion	1.37	1.21	0.94	0.76	0.84	1.90
	1.35	1.02	1.14	1.10	0.98	1.17
	1.47	0.98	0.88	1.28	0.87	1.93
						1.38
						1.94
Mittelwert	1.40	1.07	0.99	1.05	0.90	1.66
Standartabw.	0.06	0.12	0.14	0.26	0.08	0.37
<b>Zytotoxizität</b>	<b>15.98</b>	<b>35.61</b>	<b>40.67</b>	<b>37.02</b>	<b>46.13</b>	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/0,2 ml	14.47	29.66	41.74	89.23	115.61	Leerwerte
Extinsion	0.65	0.42	0.33	0.13	0.03	0.90
	0.69	0.31	0.41	-0.02	-0.01	1.28
	0.58	0.48		0.02	-0.08	1.75
						1.06
						1.54
						1.16
Mittelwert	0.64	0.40	0.37	0.05	-0.02	1.28
Standartabw.	0.05	0.09	0.06	0.08	0.06	0.32
<b>Zytotoxizität</b>	<b>50.19</b>	<b>68.51</b>	<b>71.29</b>	<b>96.44</b>	<b>101.74</b>	

<b>Zytotoxizität von Spectrum im EZ4U, 3</b>						
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/0,2 ml	13.16	28.14	44.93	86.10	120.34	Leerwerte
Extinsion	0.41	0.40	0.35	0.34	0.19	0.67
	0.44	0.36	0.31	0.30	0.18	0.51
						0.51
						0.59
						0.45
						0.75
Mittelwert	0.43	0.38	0.33	0.32	0.18	0.58
Standartabw.	0.02	0.03	0.03	0.02	0.01	0.11
<b>Zytotoxizität</b>	<b>26.42</b>	<b>34.54</b>	<b>42.40</b>	<b>44.83</b>	<b>68.65</b>	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/0,2 ml	13.26	32.55	56.84	83.11	111.08	Leerwert
Extinsion	0.32	0.24	0.18	0.10	0.08	0.70
	0.33	0.24	0.21	0.14	0.11	0.82
	0.34	0.23	0.16	0.17	0.14	0.80
						0.83
						0.85
						0.90
Mittelwert	0.33	0.23	0.18	0.14	0.11	0.82
Standartabw.	0.01	0.01	0.03	0.03	0.03	0.06
<b>Zytotoxizität</b>	<b>59.69</b>	<b>71.47</b>	<b>78.07</b>	<b>83.33</b>	<b>86.71</b>	

<b>Spectrum</b>						
Zytotoxizität von Spectrum im EZ4U (Mittelwerte)						
mg/0,2ml		13.74	30.08	46.45	86.47	115.57
	1h CT in %	15.98	35.61	40.67	37.02	46.13
		26.42	34.54	42.40	44.83	68.65
		13.48	29.70	39.37	40.27	53.10
CT in %	Mittelwert	18.63	33.28	40.81	40.71	55.96
	Standartabw.	6.86	3.15	1.52	3.92	11.53
	24h CT in %	45.87	64.35	76.81	81.52	86.39
		59.69	71.47	78.07	83.33	86.71
		50.19	68.51	71.29	96.44	101.74
CT in %	Mittelwert	51.92	68.11	75.39	87.10	91.61
	Standartabw.	7.07	3.58	3.61	8.14	8.77

<b>Zytotoxizität von Spectrum nach 72-stündiger Extraktion im EZ4U, 1</b>					
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U					
mg/ml	7.76	15.10	27.20	53.00	Leerwerte
Extinsion	1.35	1.43	1.34	0.98	2.16
	1.65	1.34	1.31	0.90	1.85
	1.42	1.64	1.25	0.74	1.66
					2.24
					2.15
					1.87
Mittelwert	1.47	1.47	1.30	0.87	1.99
Standartabw.	0.16	0.15	0.04	0.12	0.23
Zytotoxizität	25.80	26.10	34.64	56.14	
Expositionszeit 48h + 2h mit Substrat EZ4U					
mg/ml	7.76	15.10	27.20	53.00	Leerwerte
Extinsion	1.43	1.39	1.03	0.86	2.44
	1.20	1.12	0.76	0.71	2.06
	1.19	0.83	0.90	0.80	1.79
					1.77
					2.01
					2.45
Mittelwert	1.28	1.11	0.90	0.79	2.08
Standartabw.	0.13	0.28	0.14	0.07	0.30
Zytotoxizität	38.70	46.49	56.87	62.11	

<b>Zytotoxizität von Spectrum nach 72-stündiger Extraktion im EZ4U, 2</b>					
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U					
mg/ml	7.20	13.20	27.30	55.80	Leerwerte
Extinsion	0.84	0.70	0.64	0.52	0.95
	0.76	0.69	0.57	0.58	0.95
	0.65	0.61	0.56	0.40	0.97
					0.91
					0.93
					0.84
Mittelwert	0.75	0.67	0.59	0.50	0.94
Standartabw.	0.09	0.05	0.05	0.09	0.04
Zytotoxizität	20.17	29.08	37.16	46.75	
Expositionszeit 48h + 2h mit Substrat EZ4U					
mg/ml	7.20	13.20	27.30	55.80	Leerwerte
Extinsion	0.60	0.56	0.40	0.55	0.98
	0.53	0.52	0.60	0.46	0.97
	0.64		0.60	0.53	1.00
					0.94
					0.96
					0.87
Mittelwert	0.59	0.54	0.53	0.51	0.95
Standartabw.	0.05	0.02	0.12	0.05	0.04
Zytotoxizität	38.26	43.08	44.44	46.29	



<b>Zytotoxizität von Spectrum nach 72-stündiger Extraktion im EZ4U, 3</b>					
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U					
mg/ml	7.44	14.28	28.84	57.72	Leerwerte
Extinsion	0.53	0.55	0.45	0.38	1.00
	0.56	0.55	0.55	0.43	0.89
	0.64	0.61	0.43	0.55	0.94
					0.99
					0.88
					0.87
Mittelwerte	0.58	0.57	0.48	0.45	0.93
Standartabw.	0.06	0.04	0.06	0.09	0.06
<b>Zytotoxizität</b>	<b>37.71</b>	<b>38.19</b>	<b>48.72</b>	<b>51.15</b>	
Expositionszeit 48h + 2h mit Substrat EZ4U					
mg/ml	7.44	14.28	28.84	57.72	Leerwerte
Extinsion	0.58	0.55	0.51	0.47	1.10
	0.60	0.56	0.52	0.45	1.01
	0.58	0.64	0.47	0.38	1.04
					1.12
					0.94
					1.01
Mittelwert	0.59	0.58	0.50	0.43	1.03
Standartabw.	0.01	0.05	0.03	0.05	0.07
<b>Zytotoxizität</b>	<b>43.63</b>	<b>46.82</b>	<b>51.64</b>	<b>58.15</b>	

<b>Spectrum nach 72-stündiger Extraktion</b>					
Zytotoxizität von Spectrum nach 72-stündiger Extraktion im EZ4U (Mittelwerte)					
mg/ml		7.47	14.19	27.78	55.50
	24h CT in %	25.80	26.10	34.64	56.14
		20.17	29.08	37.16	46.75
		37.71	38.19	48.72	51.15
CT in %	Mittelwert	27.89	31.12	40.17	51.35
	Standartabw.	8.96	6.30	7.51	4.70
	48h CT in %	43.63	46.82	51.64	58.15
		38.26	43.08	44.44	46.29
		38.70	46.49	56.87	62.11
CT in %	Mittelwert	40.20	45.46	50.98	55.52
	Standartabw.	2.98	2.07	6.24	8.23

<b>Zytotoxizität von TEGDMA im EZ4U, 1</b>						
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/ml	0.50	1.00	2.00	4.00	8.00	Leerwerte
Extinsion	0.59	0.56	0.50	0.35	0.13	0.70
	0.55	0.52	0.40	0.32	0.18	0.64
	0.60	0.52	0.45	0.35	0.18	0.64
	0.58	0.53	0.43	0.41	0.20	0.55
						0.73
						0.71
Mittelwert	0.58	0.53	0.45	0.36	0.17	0.66
Standartabw.	0.03	0.02	0.04	0.04	0.03	0.07
<b>Zytotoxizität</b>	<b>11.21</b>	<b>19.29</b>	<b>32.30</b>	<b>45.94</b>	<b>74.16</b>	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/ml	0.50	1.00	2.00	4.00	8.00	Leerwerte
Extinsion	0.33	0.19	0.04	0.03	0.02	0.82
	0.32	0.34	0.03	0.03	0.02	0.92
	0.37	0.21	0.03	0.03	0.02	0.68
	0.49	0.25	0.04	0.03	0.03	0.67
						0.87
						0.86
Mittelwert	0.37	0.25	0.03	0.03	0.02	0.80
Standartabw.	0.08	0.08	0.01	0.00	0.01	0.10
<b>Zytotoxizität</b>	<b>53.48</b>	<b>69.32</b>	<b>95.98</b>	<b>96.73</b>	<b>97.23</b>	

<b>Zytotoxizität von TEGDMA im EZ4U, 2</b>						
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/ml	0.50	1.00	2.00	4.00	8.00	Leerwerte
Extinsion	1.00	0.92	0.84	0.53	0.28	1.71
	0.98	0.96	0.63	0.52	0.17	1.31
	1.12	0.98	0.76	0.60	0.35	1.23
	1.07	0.93	0.71	0.55	0.16	0.75
						1.02
						0.87
Mittelwert	1.04	0.95	0.74	0.55	0.24	1.15
Standartabw.	0.07	0.03	0.09	0.03	0.09	0.35
<b>Zytotoxizität</b>	<b>9.39</b>	<b>17.56</b>	<b>36.09</b>	<b>52.34</b>	<b>79.15</b>	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/ml	0.50	1.00	2.00	4.00	8.00	Leerwerte
Extinsion	0.43	0.38	0.04	0.03	0.02	1.34
	0.59	0.30	0.02	0.01	0.00	1.11
	0.62	0.37	0.03	0.01	0.01	1.22
	0.41	0.53	0.03	0.01	0.01	0.87
						1.01
						1.15
Mittelwert	0.51	0.41	0.04	0.01	0.01	1.12
Standartabw.	0.11	0.18	0.02	0.01	0.01	0.16
<b>Zytotoxizität</b>	<b>54.16</b>	<b>63.44</b>	<b>96.63</b>	<b>98.00</b>	<b>99.28</b>	

<b>Zytotoxizität von TEGDMA im EZ4U, 3</b>						
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/ml	0.50	1.00	2.00	4.00	8.00	Leerwerte
Extinsion	1.08	0.85	0.66	0.41	0.26	0.72
	0.78	0.72	0.63	0.48	0.25	0.86
	0.79	0.88	0.65	0.46	0.29	1.12
	0.88	0.82	0.56	0.44	0.26	0.99
						0.92
Mittelwert	0.88	0.82	0.62	0.44	0.26	0.92
Standartabw.	0.17	0.09	0.05	0.03	0.02	0.17
<b>Zytotoxizität</b>	<b>4.15</b>	<b>11.88</b>	<b>32.39</b>	<b>52.11</b>	<b>71.47</b>	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/ml	0.50	1.00	2.00	4.00	8.00	Leerwerte
Extinsion	0.41	0.34	0.06	0.04	0.05	0.89
	0.38	0.36	0.04	0.02	0.03	0.67
	0.43	0.31	0.05	0.06	0.01	0.74
	0.44	0.23	0.09	0.04	0.01	0.65
						0.87
						0.77
Mittelwert	0.41	0.34	0.06	0.04	0.07	0.76
Standartabw.	0.03	0.03	0.02	0.01	0.02	0.10
<b>Zytotoxizität</b>	<b>46.49</b>	<b>56.03</b>	<b>92.61</b>	<b>95.35</b>	<b>96.50</b>	

<b>TEGDMA</b>						
Zytotoxizität von TEGDMA im EZ4U (Mittelwerte)						
mg/ml		0.50	1.00	2.00	4.00	8.00
	1h CT in %	9.39	17.56	36.09	52.34	79.15
		11.21	19.29	32.30	45.94	74.16
		4.15	11.88	32.39	52.11	71.47
CT in %	Mittelwert	8.25	16.24	33.59	50.13	74.93
	Standartabw.	3.67	3.88	2.16	3.63	3.90
	24h CT in %	46.49	56.03	92.61	95.35	96.50
		53.48	69.32	95.98	96.73	97.23
		54.16	63.44	96.63	98.00	99.28
CT in %	Mittelwert	51.38	62.93	95.07	96.69	97.67
	Standartabw.	4.25	6.66	2.16	1.33	1.44

<b>Zytotoxizität von HEMA im EZ4U, 1</b>						
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/ml	0.50	1.00	2.00	4.00	8.00	Leerwerte
Extinsion	1.20	1.08	1.08	1.02	0.52	1.55
	1.24	1.15	1.20	0.85	0.71	1.56
	1.21	1.11	1.17	0.83	0.62	1.77
	1.32	1.09	1.04	1.12	0.62	1.42
						1.43
						1.20
Mittelwert	1.21	1.10	1.09	0.95	0.62	1.49
Standartabw.	0.05	0.03	0.08	0.14	0.10	0.19
<b>Zytotoxizität</b>	16.60	25.97	26.79	36.01	58.50	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/ml	0.50	1.00	2.00	4.00	8.00	Leerwerte
Extinsion	0.73	0.61	0.01	0.00	-0.25	1.55
	0.71	0.68	0.14	0.00	0.01	1.01
	0.75	0.61	0.05	0.01	0.01	0.97
	0.69	0.64	0.02	0.02	0.01	1.33
						0.78
						0.81
Mittelwert	0.72	0.64	0.07	0.01	0.01	1.08
Standartabw.	0.03	0.07	0.07	0.01	0.13	0.31
<b>Zytotoxizität</b>	32.93	40.93	93.11	98.99	99.12	

<b>Zytotoxizität von HEMA im EZ4U, 2</b>						
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/ml	0.50	1.00	2.00	4.00	8.00	Leerwerte
Extinsion	0.50	0.42	0.36	0.30	0.21	0.63
	0.48	0.47	0.37	0.27	0.28	0.52
	0.52	0.43	0.39	0.28	0.30	0.52
	0.50	0.44	0.37	0.36	0.29	0.63
						0.66
						0.56
Mittelwert	0.50	0.44	0.37	0.32	0.27	0.59
Standartabw.	0.02	0.02	0.01	0.06	0.04	0.06
<b>Zytotoxizität</b>	14.50	25.25	38.12	45.32	53.37	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/ml	0.50	1.00	2.00	4.00	8.00	Leerwerte
Extinsion	0.62	0.70	0.22	0.02	0.04	1.06
	0.69	0.56	0.20	-0.01	-0.02	1.07
	0.69	0.49	0.21	0.03	0.03	0.77
	0.69	0.58	0.19	0.03	-0.03	0.77
						1.07
Mittelwert	0.67	0.58	0.19	0.02	0.01	0.97
Standartabw.	0.03	0.11	0.05	0.02	0.01	0.16
<b>Zytotoxizität</b>	31.04	39.10	79.14	98.45	99.03	

<b>Zytotoxizität von HEMA im EZ4U, 3</b>						
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/ml	0.50	1.00	2.00	4.00	8.00	Leerwerte
Extinsion	0.91	0.89	0.75	0.58	0.20	1.30
	0.99	0.87	0.87	0.91	0.33	1.24
	1.05	0.95	0.71	0.91	0.26	1.24
	0.99	1.07	0.86	0.77	0.45	1.22
						1.10
						1.01
Mittelwert	0.99	0.94	0.83	0.79	0.31	1.19
Standartabw.	0.06	0.09	0.09	0.15	0.11	0.11
<b>Zytotoxizität</b>	<b>16.78</b>	<b>20.51</b>	<b>30.45</b>	<b>33.22</b>	<b>74.20</b>	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/ml	0.50	1.00	2.00	4.00	8.00	Leerwerte
Extinsion	1.15	0.85	0.22	0.16	0.12	1.10
	0.91	0.83	0.22	0.17	0.13	1.37
	1.22	0.91	0.37	0.15	0.12	1.53
	1.09	0.89	0.19	0.16	0.12	1.04
						1.19
						1.49
Mittelwert	0.97	0.87	0.25	0.20	0.12	1.29
Standartabw.	0.30	0.03	0.07	0.01	0.01	0.21
<b>Zytotoxizität</b>	<b>24.20</b>	<b>32.27</b>	<b>80.50</b>	<b>87.30</b>	<b>90.45</b>	

<b>HEMA</b>						
Zytotoxizität von HEMA im EZ4U (Mittelwerte)						
mg/ml		0.50	1.00	2.00	4.00	8.00
	1h CT in %	16.60	25.97	26.79	36.01	58.50
		14.50	25.25	38.12	45.32	53.37
		16.78	20.51	30.45	33.22	74.20
CT in %	Mittelwert	15.96	23.91	31.79	38.18	62.02
	Standartabw.	1.27	2.97	5.78	5.17	10.85
	24h CT in %	32.93	40.93	93.11	98.99	99.12
		31.04	39.10	79.14	98.45	99.03
		24.20	32.27	80.50	87.30	90.45
CT in %	Mittelwert	29.39	37.43	84.25	94.91	96.20
	Standartabw.	4.59	4.56	7.70	6.60	4.98

<b>Zytotoxizität von MA im EZ4U, 1</b>						
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/ml	0.50	1.00	2.00	4.00	8.00	Leerwerte
Extinsion	0.84	0.97	0.93	0.53	0.31	1.87
	1.54	0.88	0.70	0.60	0.36	1.22
	1.10	1.20	1.05	0.60	0.32	0.99
	1.38	0.87	0.86	0.60	0.32	1.53
						1.28
						1.16
Mittelwert	1.22	0.98	0.78	0.58	0.33	1.34
Standartabw.	0.27	0.15	0.15	0.04	0.02	0.31
<b>Zytotoxizität</b>	<b>8.63</b>	<b>26.86</b>	<b>41.85</b>	<b>56.49</b>	<b>75.52</b>	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/ml	0.50	1.00	2.00	4.00	8.00	Leerwerte
Extinsion	1.27	0.81	0.35	0.00	-0.03	1.40
	0.92	0.96	0.41	0.00	-0.03	1.35
	1.01	1.17	0.61	0.04	-0.02	1.42
	1.25	1.15	0.40	0.01	-0.02	1.36
						1.09
Mittelwert	1.11	1.00	0.45	0.00	-0.02	1.12
Standartabw.	0.18	0.16	0.10	0.03	0.01	1.29
<b>Zytotoxizität</b>	<b>13.68</b>	<b>22.80</b>	<b>65.13</b>	<b>99.86</b>	<b>101.78</b>	

<b>Zytotoxizität von MA im EZ4U, 2</b>						
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/ml	0.50	1.00	2.00	4.00	8.00	Leerwerte
Extinsion	1.32	1.04	0.91	0.72	0.20	1.14
	1.38	0.87	0.93	0.72	0.12	1.26
	1.45	1.25	0.90	0.70	0.34	1.86
	1.45	1.05	0.88	0.68	0.13	1.38
	1.17					1.67
						1.45
Mittelwert	1.36	1.05	0.91	0.71	0.22	1.46
Standartabw.	0.12	0.15	0.02	0.02	0.10	0.27
<b>Zytotoxizität</b>	<b>7.02</b>	<b>27.93</b>	<b>37.97</b>	<b>51.68</b>	<b>84.91</b>	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/ml	0.50	1.00	2.00	4.00	8.00	Leerwerte
Extinsion	0.77	0.80	0.41	0.03	0.01	1.05
	0.76	0.77	0.50	0.03	0.02	1.07
	0.69	0.80	0.53	0.03	0.01	1.13
	1.19	1.06	0.52	0.04	0.01	1.09
						1.47
Mittelwert	0.93	0.89	0.49	0.03	0.01	1.06
Standartabw.	0.26	0.15	0.05	0.01	0.00	1.14
<b>Zytotoxizität</b>	<b>18.66</b>	<b>22.40</b>	<b>57.34</b>	<b>97.03</b>	<b>99.13</b>	

<b>Zytotoxizität von MA im EZ4U, 3</b>						
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/ml	0.50	1.00	2.00	4.00	8.00	Leerwerte
Extinsion	1.38	1.22	0.88	0.62	0.38	1.42
	1.39	1.17	0.87	0.66	0.39	1.49
	1.37	0.87	0.83	0.67	0.42	1.55
	1.39	1.36	0.97	0.66	0.42	1.43
						1.64
						1.26
Mittelwert	1.38	1.09	0.89	0.65	0.40	1.47
Standartabw.	0.01	0.26	0.06	0.02	0.02	0.13
<b>Zytotoxizität</b>	<b>5.66</b>	<b>25.77</b>	<b>39.38</b>	<b>54.74</b>	<b>72.56</b>	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U						
mg/ml	0.50	1.00	2.00	4.00	8.00	Leerwerte
Extinsion	1.05	1.12	0.39	-0.08	-0.15	1.35
	1.21	0.91	0.30	-0.12	-0.13	1.31
	1.25	1.03	0.70	-0.09	-0.12	1.42
	1.16	1.22	0.34	-0.08	-0.12	1.43
						1.71
						1.55
Mittelwert	1.16	1.07	0.48	-0.10	-0.13	1.46
Standartabw.	0.11	0.13	0.19	0.02	0.01	0.14
<b>Zytotoxizität</b>	<b>20.05</b>	<b>26.76</b>	<b>67.33</b>	<b>106.64</b>	<b>108.89</b>	

<b>MA</b>						
Zytotoxizität von MA im EZ4U (Mittelwerte)						
mg/ml		0.50	1.00	2.00	4.00	8.00
	1h CT in %	8.63	26.86	41.85	56.49	75.52
		7.02	27.93	37.97	51.68	84.91
		5.66	25.77	39.38	54.74	72.56
CT in %	Mittelwert	7.10	26.85	39.73	54.30	77.66
	Standartabw.	1.49	1.08	1.96	2.43	6.45
	24h CT in %	13.68	22.80	65.13	99.86	101.78
		18.66	22.40	57.34	97.03	99.13
		20.05	26.76	67.33	106.64	108.89
CT in %	Mittelwert	17.46	23.99	63.27	101.18	103.27
	Standartabw.	3.35	2.41	5.25	4.94	5.05

<b>Zytotoxizität von Quecksilber(II)-chlorid im EZ4U, 1</b>						
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U						
µg/ml	7.50	3.75	1.87	0.94	0.47	Leerwerte
Extinsion	0.55	0.67	0.78	0.95	1.13	1.22
	0.53	0.78	0.80	1.02	1.11	1.27
	0.53	0.67	0.75	1.00	1.12	1.11
	0.58	0.69	0.79	1.00	1.13	1.21
						1.13
Mittelwert	0.55	0.70	0.78	0.99	1.12	1.21
Standartabw.	0.02	0.05	0.02	0.03	0.01	0.08
<b>Zytotoxizität</b>	<b>54.86</b>	<b>42.47</b>	<b>35.75</b>	<b>17.97</b>	<b>7.48</b>	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U						
µg/ml	7.50	3.75	1.87	0.94	0.47	Leerwerte
Extinsion	0.01	0.02	0.15	0.79	1.27	1.31
	0.02	0.03	0.13	0.82	1.27	1.35
	0.01	0.03	0.14	0.80	1.26	1.40
	0.00	0.02	0.17	0.80	1.28	1.36
						1.40
						1.19
Mittelwert	0.01	0.02	0.15	0.80	1.28	1.34
Standartabw.	0.01	0.00	0.02	0.01	0.01	0.08
<b>Zytotoxizität</b>	<b>99.22</b>	<b>98.34</b>	<b>88.94</b>	<b>39.82</b>	<b>4.65</b>	

<b>Zytotoxizität von Quecksilber(II)-chlorid im EZ4U, 2</b>						
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U						
µg/ml	7.50	3.75	1.87	0.94	0.47	Leerwerte
Extinsion	0.46	0.73	0.83	0.94	1.17	1.03
	0.50	0.72	0.77	0.97	1.16	1.44
	0.53	0.74	0.83	0.96	1.16	1.02
	0.49	0.73	0.85	0.95	1.17	1.39
						1.15
						1.44
Mittelwert	0.49	0.73	0.82	1.00	1.17	1.24
Standartabw.	0.03	0.01	0.03	0.01	0.01	0.20
<b>Zytotoxizität</b>	<b>60.53</b>	<b>41.39</b>	<b>34.08</b>	<b>20.02</b>	<b>6.35</b>	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U						
µg/ml	7.50	3.75	1.87	0.94	0.47	Leerwerte
Extinsion	0.01	0.01	0.15	0.63	1.01	1.14
	0.01	0.02	0.14	0.66	1.03	1.38
	0.01	0.03	0.16	0.60	1.02	1.15
	0.01	0.02	0.15	0.55	1.01	1.03
						0.98
						1.05
Mittelwert	0.01	0.02	0.15	0.61	1.02	1.12
Standartabw.	0.00	0.01	0.01	0.05	0.01	0.14
<b>Zytotoxizität</b>	<b>99.20</b>	<b>98.20</b>	<b>86.61</b>	<b>45.71</b>	<b>9.28</b>	



<b>Zytotoxizität von Quecksilber(II)-chlorid im EZ4U, 3</b>						
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U						
µg/ml	7.50	3.75	1.87	0.94	0.47	Leerwerte
Extinsion	0.47	0.58	0.68	0.79	1.07	1.22
	0.50	0.63	0.77	0.89	1.06	1.18
	0.49	0.62	0.86	0.89	1.00	1.07
	0.49	0.58	0.85	0.86	1.00	1.21
						0.94
						1.08
Mittelwert	0.49	0.60	0.79	0.86	1.03	1.12
Standartabw.	0.01	0.03	0.08	0.05	0.04	0.11
<b>Zytotoxizität</b>	<b>55.07</b>	<b>46.12</b>	<b>33.62</b>	<b>22.60</b>	<b>7.65</b>	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U						
µg/ml	7.50	3.75	1.87	0.94	0.47	Leerwerte
Extinsion	0.00	0.01	0.13	0.66	1.07	1.17
	0.00	0.00	0.12	0.66	1.07	0.89
	0.00	0.00	0.15	0.67	1.06	1.27
	0.00	0.01	0.15	0.65	1.08	1.08
						1.03
						1.14
Mittelwert	0.00	0.00	0.14	0.66	1.07	1.10
Standartabw.	0.00	0.00	0.02	0.01	0.01	0.13
<b>Zytotoxizität</b>	<b>99.56</b>	<b>99.71</b>	<b>87.44</b>	<b>39.56</b>	<b>6.13</b>	

<b>Quecksilber(II)-chlorid</b>						
Zytotoxizität von Quecksilber(II)-chlorid im EZ4U, Mittelwerte						
µg/ml		7.50	3.75	1.87	0.94	0.47
	1h CT in %	54.86	42.47	35.75	17.97	7.48
		60.53	41.39	34.08	20.02	6.35
		55.07	46.12	33.62	22.60	7.65
CT in %	Mittelwert	56.82	43.33	34.48	20.20	7.16
	Standartabw.	3.21	2.48	1.12	2.32	0.71
	24h CT in %	99.22	98.34	88.94	39.82	4.65
		99.20	98.20	86.61	45.71	9.28
		99.56	99.71	87.44	39.56	6.13
CT in %	Mittelwert	99.33	98.75	87.66	41.70	6.69
	Standartabw.	0.20	0.83	1.18	3.48	2.36

Zytotoxizität von Methylquecksilberchlorid im EZ4U, 1						
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U						
µg/ml	7.50	3.75	1.87	0.94	0.47	Leerwerte
Extinsion	0.45	0.57	0.79	1.07	1.17	1.42
	0.42	0.56	0.82	1.02	1.15	1.50
	0.43	0.60	0.80	1.01	1.22	1.45
	0.39	0.59	0.78	1.02	1.02	1.48
						1.20
						1.31
Mittelwert	0.42	0.58	0.80	1.03	1.19	1.39
Standartabw.	0.02	0.02	0.02	0.03	0.08	0.11
<b>Zytotoxizität</b>	69.78	58.27	42.44	25.90	14.45	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U						
µg/ml	7.50	3.75	1.87	0.94	0.47	Leerwerte
Extinsion	0.02	0.02	0.05	0.08	0.97	1.51
	0.02	0.02	0.06	0.08	0.98	1.64
	0.02	0.02	0.05	0.07	0.99	1.52
	0.02	0.02	0.05	0.08	0.98	1.61
						1.60
						1.55
Mittelwert	0.02	0.02	0.05	0.08	0.98	1.57
Standartabw.	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.05
<b>Zytotoxizität</b>	98.79	98.73	96.69	95.16	37.58	

Zytotoxizität von Methylquecksilberchlorid im EZ4U, 2						
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U						
µg/ml	7.50	3.75	1.87	0.94	0.47	Leerwerte
Extinsion	0.22	0.32	0.56	0.62	0.74	0.84
	0.22	0.34	0.55	0.66	0.74	1.02
	0.23	0.33	0.55	0.68	0.72	0.84
	0.22	0.33	0.55	0.67	0.72	0.98
						0.84
						0.94
Mittelwert	0.22	0.33	0.55	0.67	0.73	0.91
Standartabw.	0.01	0.01	0.01	0.03	0.01	0.08
<b>Zytotoxizität</b>	75.66	63.99	39.32	25.48	19.17	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U						
µg/ml	7.50	3.75	1.87	0.94	0.47	Leerwerte
Extinsion	-0.02	-0.02	-0.01	0.01	0.51	0.74
	-0.02	-0.02	-0.01	0.01	0.49	0.85
	-0.03	-0.01	-0.01	0.01	0.50	0.80
	-0.03	-0.02	-0.01	0.01	0.50	0.92
						0.81
						0.90
Mittelwert	-0.02	-0.02	-0.01	0.01	0.50	0.84
Standartabw.	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.07
<b>Zytotoxizität</b>	102.74	101.90	101.19	98.81	40.24	

Zytotoxizität von Methylquecksilberchlorid im EZ4U,3						
Expositionszeit 1h + 2h mit Substrat EZ4U						
µg/ml	7.50	3.75	1.87	0.94	0.47	Leerwerte
Extinsion	0.40	0.53	0.93	1.02	1.18	1.28
	0.39	0.54	0.93	1.00	1.18	1.52
	0.40	0.54	0.93	0.99	1.18	1.32
	0.39	0.54	0.93	1.00	1.18	1.46
						1.33
						1.44
Mittelwert	0.39	0.54	0.93	1.00	1.18	1.39
Standartabw.	0.01	0.01	0.00	0.01	0.00	0.10
<b>Zytotoxizität</b>	<b>71.80</b>	<b>61.15</b>	<b>33.09</b>	<b>27.84</b>	<b>15.11</b>	
Expositionszeit 24h + 2h mit Substrat EZ4U						
µg/ml	7.50	3.75	1.87	0.94	0.47	Leerwerte
Extinsion	0.01	0.01	0.02	0.04	0.72	1.25
	0.01	0.02	0.03	0.03	0.73	1.24
	0.01	0.01	0.02	0.04	0.72	1.22
	0.01	0.02	0.02	0.04	0.72	1.23
						1.25
						1.17
Mittelwert	0.01	0.01	0.02	0.04	0.72	1.22
Standartabw.	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.03
<b>Zytotoxizität</b>	<b>99.39</b>	<b>98.93</b>	<b>98.03</b>	<b>96.88</b>	<b>40.82</b>	

Methylquecksilberchlorid						
Zytotoxizität von Methylquecksilberchlorid im EZ4U (Mittelwert)						
µg/ml		7.50	3.75	1.87	0.94	0.47
	1h CT in %	69.78	58.27	42.44	25.90	14.45
		75.66	63.99	39.32	25.48	19.17
		71.80	61.15	33.09	27.84	15.11
CT in %	Mittelwert	72.41	61.14	38.28	26.41	16.24
	Standartabw.	2.99	2.86	4.76	1.26	2.56
	24h CT in %	98.79	98.73	96.69	95.16	37.58
		102.74	101.90	101.19	98.81	40.24
		99.39	98.93	98.03	96.88	40.82
CT in %	Mittelwert	100.31	99.85	98.64	96.95	39.55
	Standartabw.	2.13	1.78	2.31	1.83	1.73

## **Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. habil. Dr. rer. nat. H.-P. Klöcking vom Institut für Pharmakologie und Toxikologie an der Friedrich-Schiller-Universität Jena / Bereich Erfurt für die Überlassung des Themas und die jederzeit gewährte Unterstützung bei dessen Bearbeitung.

Weiterhin danke ich den Mitarbeitern des Institutes für Antivirale Chemotherapie der Friedrich-Schiller-Universität Jena / Bereich Erfurt - insbesondere Frau Prof. Dr. rer. nat. habil. R. Klöcking und Frau Rothmann - für die Beratung bei der Zellzüchtung.

Außerdem möchte ich allen im Bereich von Herrn Prof. Klöcking tätigen Diplomanden und Doktoranden danken, die mir Hilfe und Unterstützung bei der praktischen und computertechnischen Bearbeitung des Themas gegeben haben.

## **Ehrenwörtliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,  
ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,  
mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: Herr Prof. Dr. Dr. Klöcking.  
die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde, und dass Dritte weder mittelbar noch unmittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,  
dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder eine andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe, und  
dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Erfurt, den 25.12.2002

Katja Hofmann